

# MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE LA CANCÉROGÉNÈSE

Une seule anomalie ne suffit pas, il faut une combinaison d'anomalies pour obtenir des cellules ayant une forte capacité à proliférer et ainsi devenir invasives.

Au début, c'est une maladie in situ qui ne touche qu'une cellule mais petit à petit cela prend de l'ampleur.

Initialement, une tumeur est une anomalie de la prolifération : **prolifération indéfinie, immortalisation : prolifération anormale au sein d'un tissu normal de l'organisme.**

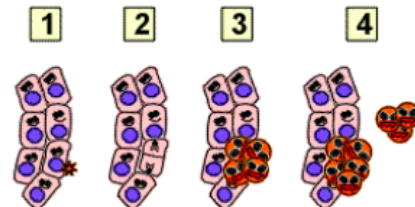
**Envahissement progressif de l'organe d'origine, puis de l'organisme entier, par des cellules devenues peu sensibles ou insensibles aux mécanismes d'homéostasie tissulaire.**

Il y a 2 grandes catégories de gènes importantes :

- les oncogènes
- les gènes suppresseurs

Cellules cancéreuses :

- croissance et division anarchiques, non contrôlées → tumeur
- perte de leur caractères spécifiques → dédifférenciation
- essaimement → métastases



Immortelle  
Dédifférenciation  
Métastases

In vitro, la cellule cancéreuse développe des caractères nouveaux :

→ elles deviennent des cellules **immortelles** :

- Perte de l'inhibition de contact
- Perte de nécessité d'ancrage

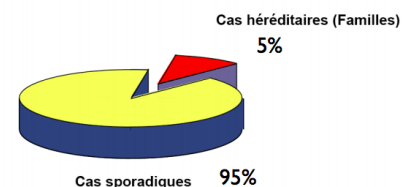
On peut donc facilement travailler avec des cellules cancéreuses immortelles en laboratoire.

*NB : il est possible de classer les cellules cancéreuses en fonction de leur dédifférenciation.*

*Celles qui sont les plus dédifférenciées seront les plus agressives.*

**Origine clonale : accumulation d'anomalies du génome**

- somatique : genèse tumorale
- germinale : héréditaire - prédisposition familiale



➤ **Agents initiateurs : lésions de l'ADN**

- **carcinogènes chimiques: hydrocarbures polycycliques aromatiques (pétrole, tabac), amines aromatiques (colorants, industrie du caoutchouc..)**
- radiations
- virus (hépatite B, d'Epstein Barr,...)

➤ **Agents Promoteurs: favorisent l'expression d'une lésion génétique**

- esters de phorbol (TPA)
- hormones: estrogènes (cancer du sein)...

➤ **Accumulation d'anomalies du génome**

- Oncogènes
- Gènes suppresseurs
- Intégrité du génome

Les origines de la survenue sont multiples :

- environnement (tabac, UV, P32...),
- déséquilibres hormonaux
- virus (HBV, HTLV-1).

En plus, pour que le cancer survienne, il y a une hyperstimulation de la division cellulaire et une activation ou répression de gènes (oncogènes, gènes suppresseurs).

## **I. Oncogènes :**

Ils ont été identifiés la première fois chez les virus (rétrovirus : virus à ARN). Ces rétrovirus vont avoir besoin de venir infecter une cellule et de se servir de son système pour se diviser.

- « **Onkos** » = masse : ce sont des gènes qui vont induire une masse.
- On retrouve donc ces gènes au niveau des facteurs de la prolifération.

### **A. Historique :**

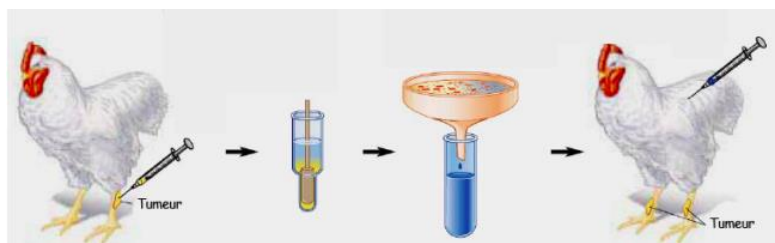
**On a découvert les oncogènes en 1911 :**

➤ **Sarcome de Rous chez la poule: v-src**

- On s'est rendu compte que des poulets développaient des sarcomes.
- Alors, Dr Rous, un médecin de l'époque, a isolé les cellules des tumeurs, en a fait un broyât, les a filtrées et réinjectées sur d'autres poulets. Ces autres poulets ont eux aussi développés des tumeurs.
- Les cancers auraient donc pu être transmis...? En fait, c'est un cas particulier de cancer qui est dépendant d'un virus à ARN qui exprime un oncogène. Ce sont ces virus qui entraînaient la « transmission » de la tumeur. Les cancers transmis par des virus sont très rares.
- Un broyât de cellules cancéreuses classique injecté n'entraîne pas de cancer.

Cette découverte permet tout de même de comprendre qu'il y a des gènes responsables des cancers.

**Inoculation chez la poule => 1-2 semaines développement d'un sarcome: agent cancérigène virus à ARN v-onc**



Un ensemble de virus à ensuite été identifié comme ayant une activité inductrice de cancer. Ce sont les virus qui véhiculent les oncogènes.

<b>II. HISTORIQUE</b>				
<b>Onc</b>	<b>Isolat Viral</b>	<b>Espèce</b>	<b>Tumeur Produite</b>	<b>Localisation Chromosomique du c-onc humain (locus)</b>
<b>abl</b>	<b>v. d'Abelson (MLV)</b>	<b>Souris</b>	<b>Leucémie pré-B</b>	<b>9q34 (ABL)</b>
<b>H-ras</b>	<b>v. de Harvey</b>	<b>Rat</b>	<b>Sarcome et Erythroleucémie</b>	<b>11p15.5 (HRAS1)</b>
<b>K-ras</b>	<b>v. de Kirsten</b>	<b>Rat</b>	<b>Sarcome et Erythroleucémie</b>	<b>12p12.1 (KRAS2)</b>
<b>sis</b>	<b>v. simien</b>	<b>Singe</b>	<b>Sarcome</b>	<b>22q12 (PDGF)</b>
<b>myc</b>	<b>v. MC29</b>	<b>Poulet</b>	<b>Myélocytome</b>	<b>8q24 (MYC)</b>
<b>src</b>	<b>v. de Rous</b>	<b>Chicken</b>	<b>Sarcome</b>	<b>20q12 (SRC)</b>

**=> Equivalent cellulaire c-onc (1977 Bishop & Varmus)**

Parmi tous ces virus, on a retrouvé les oncogènes responsable des cancers. Ces oncogènes ont alors été nommés en fonction du nom du virus, de l'animal où on les a découvert et du type de cancer que ces oncogènes produisaient.

On appelle ces oncogènes « virus oncogènes ». On s'est ensuite aperçu que, quand on fait la comparaison des séquences des oncogènes avec le génome humain, on trouve des séquences identiques (oncogène Abl retrouvé en 9q34, K-Ras en 12p12.1). On a donc dans notre génome des séquences qui potentiellement peuvent induire une masse.

C'est donc en 1977 qu'on démontre que dans les cellules, il y a des équivalents des oncogènes viraux : pour les distinguer, on appelle ces gènes présents dans les cellules les c-oncogènes (oncogènes cellulaires). Les oncogènes ont donc d'abord été identifiés chez les virus, et ensuite les équivalents ont été trouvés chez l'homme.

Puisque toutes nos cellules portent ces gènes, toutes ces cellules ont donc la capacité de se transformer. Sauf qu'il va falloir qu'il se passe quelque chose au niveau du gène initial pour qu'il acquière une super-activité. C'est la transformation d'un proto-oncogène (gène normal précurseur d'un oncogène) en oncogène (gène anormal). Les proto-oncogènes sont donc des gènes avec une activité bien régulée. Les oncogènes ne sont plus régulés de la même façon.

## **B. Rôle dans la genèse tumorale :**

La différence principale des oncogènes avec les gènes suppresseurs (cours ultérieur), c'est que les oncogènes sont sur un **mode d'action dominant**.

Par gène on a deux allèles, et il suffit qu'un des deux allèles du gène soit altéré pour avoir un gain de fonction : super-activité.

L'altération d'un seul allèle. **Proto- oncogène (précurseur) => oncogène**

Ce mode d'action dominant permet d'expliquer l'absence à ce jour de mutation germinale au niveau des proto-oncogènes → létal pour le fœtus.

A l'inverse des gènes suppresseurs, on ne retrouve pas de mutation oncogénique au niveau du fœtus car c'est létal. Quand on regarde la répartition dans les cancers familiaux, c'est généralement les gènes suppresseurs de tumeur qui sont impliqués.

Les produits des proto-oncogènes ou **oncoprotéines** : rôles

→ Plusieurs classes d'oncoprotéines en suivant l'ordre logique de la signalisation à la prolifération cellulaire.

- Ligand / Facteur de croissance
- Récepteur
- Voie de signalisation
- Facteur de transcription

Les oncogènes donnent des onco-protéines : protéines qui vont induire la prolifération et la division cellulaire. Elles vont agir à différents niveaux et à différents endroits pour induire la prolifération.

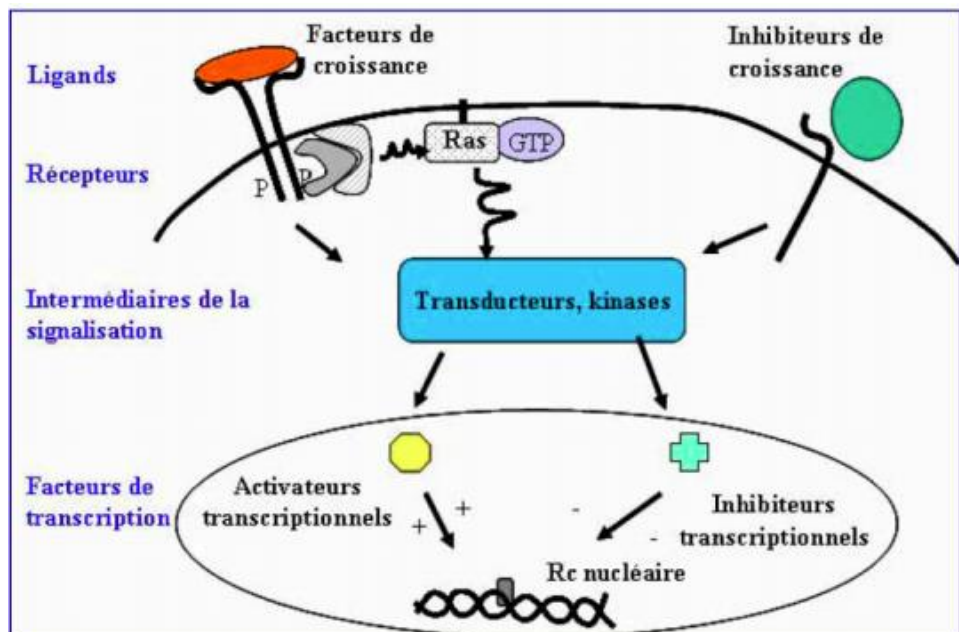
Pour proliférer, les cellules reçoivent des signaux de prolifération (facteurs de croissance) depuis l'environnement. Ces signaux se lient à des récepteurs qui vont activer tout un système de transmission du signal (= cascade de phosphorylation). Cette cascade aboutit à des facteurs de transcription qui vont activer la transcription de gènes importants pour la prolifération (transition entre les différentes phases de la mitose). Cette cascade d'événement active donc le cycle et la division cellulaire.

C'est un système très bien régulé, mais il suffit de quelques éléments pour emballer le système. Il est régulé positivement mais aussi négativement avec des rétro-contrôles.

Les voies de signalisation sont les voies Ras (oncogène).

Dans une cellule tumorale, c'est une accumulation d'anomalies qui vont faire que la cellule va proliférer de manière non contrôlée. La tumeur met donc en place un nouveau programme de prolifération.

**Tumeur** : anomalies successives qui perturbent de façon permanente la prolifération cellulaire, **l'équilibre cellulaire est rompu**



## C. Les mécanismes d'activation :

### Activation des proto-oncogènes en Oncogènes

Comment un proto-oncogène peut devenir un oncogène et activer fortement la prolifération?

Il y a 2 types de modification :

- **Phénomène qualitatif** : il y a une mutation du gène. Des agents géno-toxiques entraînent un changement de base dans l'ADN et cela donne une nouvelle activité au gène : production d'une **protéine anormale**.
- **Phénomène quantitatif** : le produit final est le même mais l'expression du produit est beaucoup plus forte : **surexpression gène normal**. On produit plus de protéines, mais des protéines normales.

Dans les deux cas l'activité de ces oncogènes est très augmentée.

=> **équilibre** de la cellule est rompu

### 1. Mutations activatrices qualitatives :

#### a. Modification ponctuelle d'une base par mutation :

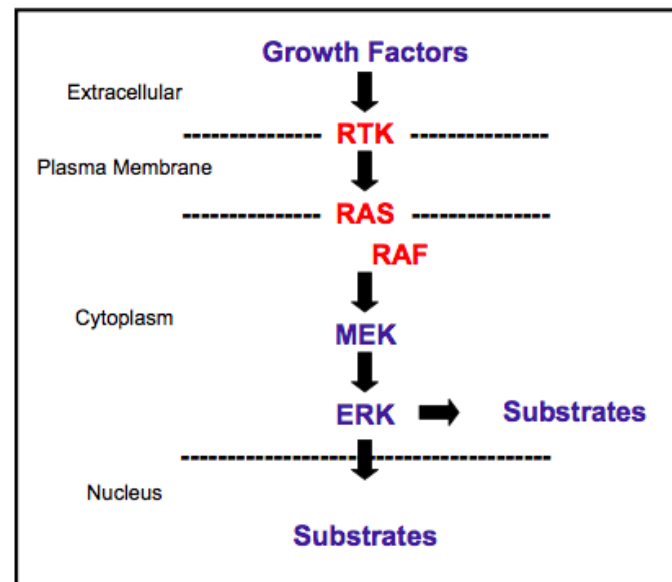
### Ex : Oncogènes Ras :

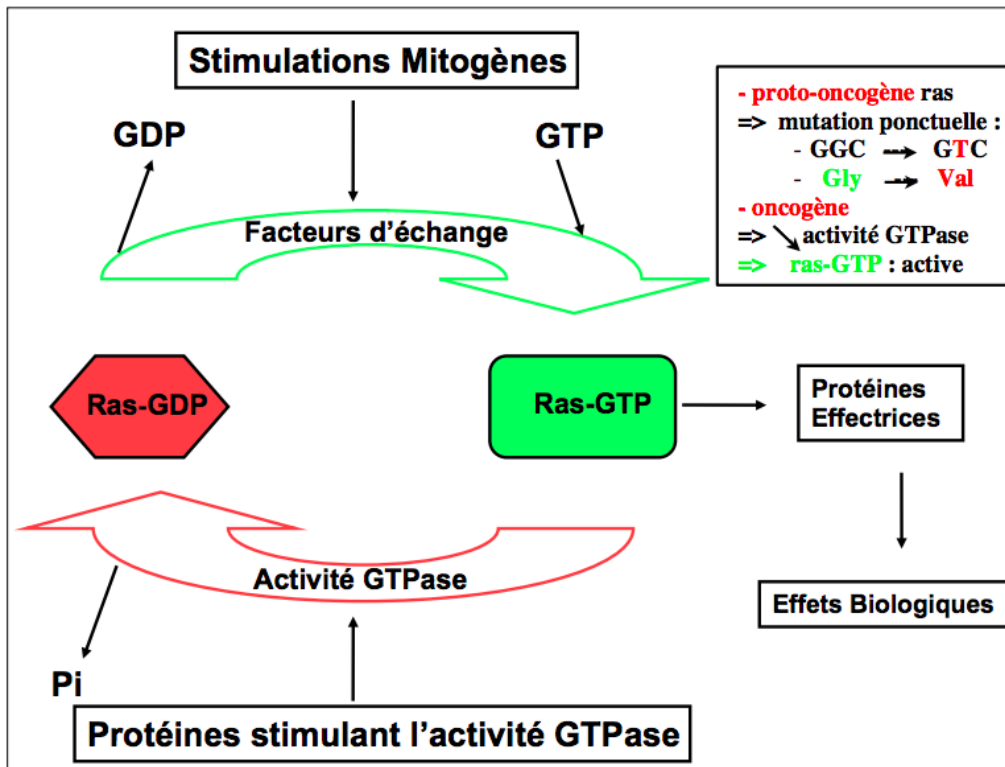
=> **mutation ponctuelle** : Ras et sa famille

Les Ras sont des petites protéines qui transmettent le signal dans la voie de signalisation :

- Elles reçoivent un signal de prolifération puis
- Elles transmettent le message par un jeu de phosphorylation : Ras→Raf→Mek→Erk
- Cela aboutit à la phosphorylation du facteur de transcription.

Des mutations au niveau des gènes codant pour les protéines Ras, Rak... vont transformer cette voie en une voie constitutionnellement active.





Toutes ces molécules sont des protéines G qui jouent le rôle d'interrupteurs moléculaires. Ces protéines sont « off » ou « on » en fonction de l'état de phosphorylation : soit elles sont diphosphate (GDP), soit triphosphate (GTP).

Il y a réception d'un facteur de croissance par la cellule ce qui active un facteur d'échange qui va alors phosphoryler la protéine Ras GDP inactive en Ras GTP. À ce moment elle transmet un signal aux protéines effectrices ce qui entraînera un effet biologique au bout de la cascade. Cependant, une fois qu'elle a activé les protéines, elle doit revenir à son état inactif. Pour cela, elle a elle même une activité GTPasique intrinsèque => déphosphorylation en GDP et inactivation.

Lorsque l'on a une mutation ponctuelle, par exemple de l'oncogène Ras, on a une base G qui devient une T dans la séquence => changement d'un AA glycine en valine. Cette valine est située au niveau de l'activité GTPasique intrinsèque de la protéines G. La protéine G perd donc cette activité GTPasique. Elle reste donc très longtemps sous sa forme activée. La voie de signalisation en aval est donc tout le temps activée. On a donc une activité constitutive de la protéine Ras.

Ces mutation Ras sont retrouvées dans le cancer du poumon, du pancréas, colorectale, thyroïde...

### Ex : mutation B-Raf : Mutations RAS / B-RAF sont fréquentes et précoces

Mutations RAS / B-RAF sont fréquentes et précoces

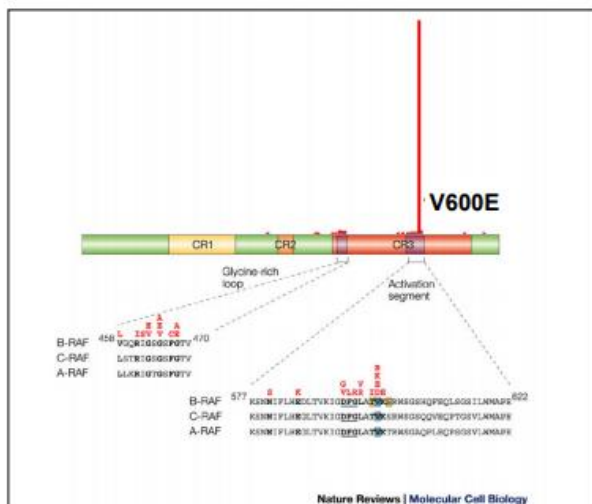


Table 1 | Activation of RAS signalling pathways in different tumours

Defect or mutation	Tumour type	Frequency (%)
RAS mutation	Pancreas	90 (K)
	Lung adenocarcinoma (non-small-cell)	35 (K)
	Colorectal	45 (K)
	Thyroid (Follicular)	55 (H, K, N)
	Thyroid (Undifferentiated papillary)	60 (H, K, N)
	Seminoma	45 (K, N)
BRAF mutation	Melanoma	75 (K)
	Bladder	10 (H)
	Liver	30 (N)
	Kidney	10 (H)
	Myelodysplastic syndrome	40 (N, K)
	Acute myelogenous leukaemia	30 (N)
EGFR overexpression	Most carcinomas	>50
	ERBB2 amplification	Breast
PTEN loss	Glioblastoma multiforme	20-30
	Prostate	20
AKT2 amplification	Pancreas	40
	Pancreas	10
PI3K amplification	Ovarian	40
	Ovarian	10

EGFR, epidermal growth-factor receptor; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; H, K and N refer to HRAS, KRAS and NRAS, respectively.

Il y a aussi les mutations B-Raf qui sont retrouvées dans 60% des mélanomes cutanéés. Les mutations de Ras / B-Raf sont très fréquentes et précoces dans le développement tumoral : elles sont nécessaire mais pas suffisante (50% sont mutés mais sont bloqués en sénescence). Cette mutation est à peu près tout le temps identique (95% = domaine V600) : une valine donne un acide glutamique.

Le segment important est le domaine d'activité kinase (B-Raf est une protéine kinase). La mutation augmente beaucoup l'activité kinase ce qui entraîne une plus grande transmission du signal. Il y a 60% des mélanomes avec cette mutation : il a été développé des inhibiteurs qui viennent dans la poche de la kinase et qui bloquent la kinase. Ce sont les premiers TTT des mélanomes. Ce sont des inhibiteurs de la protéine mutée uniquement et pas de la protéines à l'état sauvage.

## **b. Translocations chromosomiques**

Il peut y avoir une fraction d'un chromosome qui est transloqué sur un autre : un chromosome donneur et un chromosome accepteur. Il y a donc une inversion du matériel. Ex : l'extrémité du chr 9 est transloqué sur le chr 22 et inversement. C'est une translocation équilibrée.

**Cette translocation génère un nouveau gène dit chimérique à partir des gènes initiaux qui ont été coupé = Abl (chr 9) et Bcr (chr 22). Ce gène est alors transcrit en ARN et en protéine.**

Cette translocation est un élément nécessaire dans certaines leucémies : Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) et Leucémie Aigüe Lymphoblastique (LAL) sont dues à une translocation 9/22.

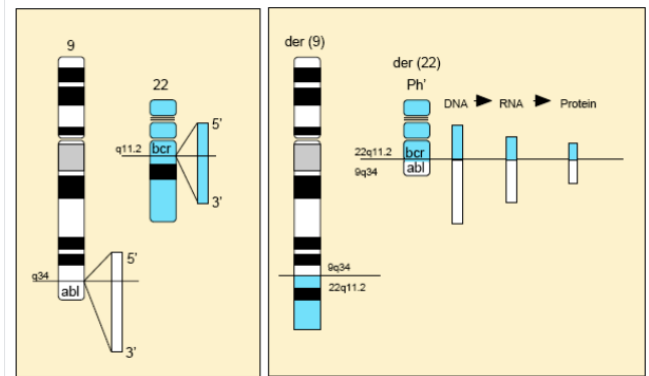
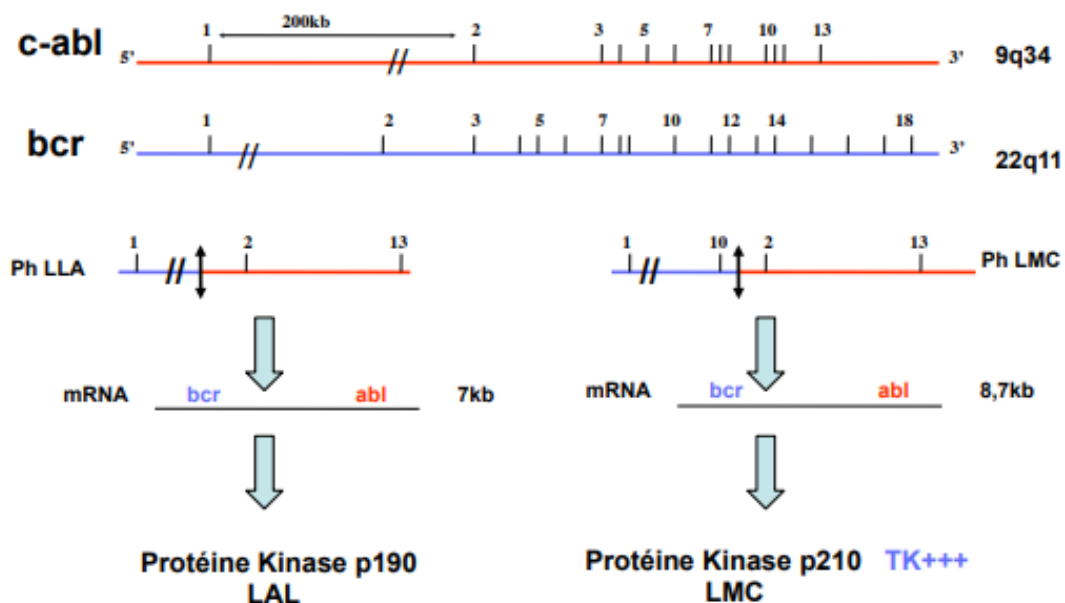


Schéma : les numéros sur les brins d'ADN représentent les exons, les séquences entre les numéros représentent les introns. La partie codante est les exons.

Leucémie aiguës lymphoblastiques (LAL) : L'exon 1 de Bcr est rabouté avec l'exon 2 d'Abl. A chaque fois cela génère de nouveaux gènes, et donc de nouvelles protéines. La caractéristique de ces deux nouvelles protéines et que l'activité kinase de l'oncogène (ici Abl) est très augmentée.



On retrouve les translocations de manière très fréquente dans les tumeurs hématologiques. Les lymphocytes doivent avoir la capacité de faire beaucoup de recombinaison pour les recombinaisons immunologiques (recombinaisons VDJ). Les translocations sont donc caractéristiques des tumeurs hématologiques.

**Gènes Chimériques produits par réarrangements Chromosomiques**

<b>LMC</b>	<b>9/22</b>	<b>BRC/ABL</b>	<b>Tyrosine Kinase</b>
<b>LMA</b>	<b>16/21</b>	<b>FUS/ERG</b>	<b>Facteur de Transcription</b>
<b>LAL</b>	<b>X/11</b> <b>4/11</b> <b>9/11</b> <b>11/19</b>	<b>MLL-AFX1</b> <b>MLL-AF4</b> <b>MLL-NEF9</b> <b>MLL-NL</b>	<b>FdT</b> <b>FdT</b> <b>FdT</b> <b>FdT</b>
<b>LA ProM</b>	<b>15/17</b>	<b>PMC-NEARA</b>	<b>FdT</b>

Autres : Rhabdomyosarcome, Sarcome d'Ewing....

Ex :

- Leucémie myéloïde chronique : translocation donne une activité tyrosine kinase augmenté.
- Leucémie aiguë lymphoblastique : réarrangement du gène MLL.
- ...

Ce n'est pas limité aux leucémies mais ça y est très fréquemment.

**2. Mutations activatrices quantitatives :**

**Résulte en l'augmentation de l'ARN et de la protéine sans réarrangements.**

La séquence de la protéine ne change pas, c'est la quantité qui change.

On a soit une amplification au niveau du gène, soit au niveau de l'ARN, soit au niveau de la protéine.

<b>HER2</b>	<b>RTK</b>	<b>Cancer du sein</b>
<b>EGFR</b>	<b>RTK</b>	<b>Sein/Glioblastomes etc.</b>
<b>Met</b>	<b>RTK</b>	<b>Sein/Estomac/Sarcomes etc.</b>
<b>Cyclin D1</b>	<b>Cycle cellulaire</b>	<b>Sein</b>
<b>Myc</b>	<b>Transcription</b>	<b>Cancer du poumon/ Neuroblastome</b>

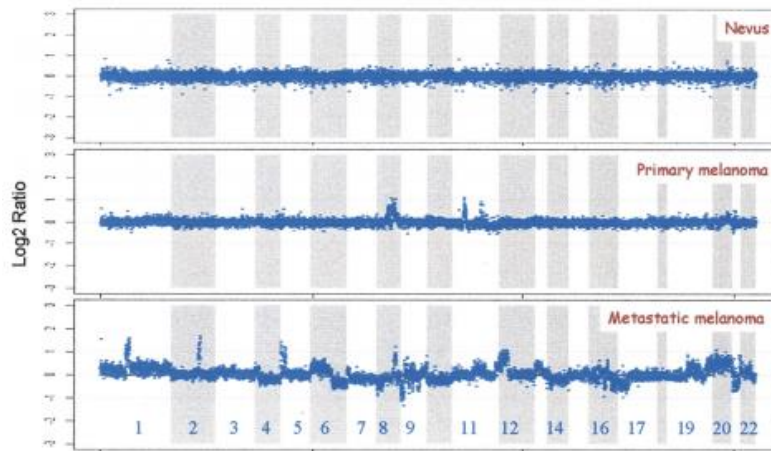
**a. L'amplification d'un gène :**

Au lieu d'avoir 2 copies du gènes on en aura de 20 à 250 copies, les protéines seront donc sur-exprimées, créant un déséquilibre.

Myc est un oncogène très puissant qui a plusieurs façon d'être rendu hyper-actif. La première étant l'amplification : dans les neuroblastomes. Chez les enfants, on distingue donc les neuroblastomes Myc amplifié, ou non. Ils ne répondent pas de la même façon à la thérapeutique.

Amplification = gain d'une partie des régions des chr. Certaines régions sont amplifiées (pics vers le haut), d'autres sont perdues (pics vers le bas). Plus le cancer est avancé, et plus il y a d'amplification et de délétion : plus l'instabilité génomique est importante. Plus une tumeur avance dans sa vie, plus son génome va être remanié, et plus il va être difficile à traiter.





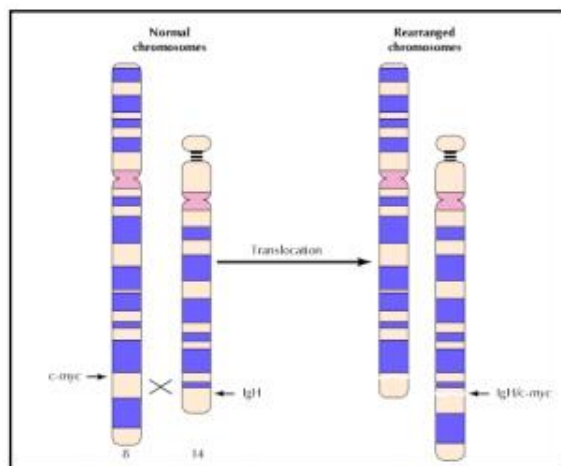
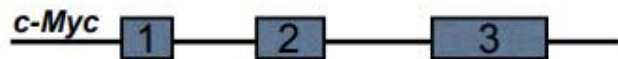
## b. Les translocations chromosomiques :

Elles sont un petit peu différentes des précédentes.

Le gène est transloqué mais la protéine produite ne change pas (la séquence du gène reste la même), c'est l'expression du gène qui augmente. Le gène passe dans un autre environnement, sous le contrôle d'un promoteur actif, il ne va plus être régulé de la même façon et peut être très augmenté.

C'est ce qu'on retrouve dans le lymphome de Burkitt : translocation équilibrée 8/14 (en terme de nombre et de qualité des gènes), mais le gène Myc (proto-oncogène c-Myc) se trouve au niveau de la jonction de la translocation et est donc déplacé à côté du gène des Ig ce qui va modifier sa régulation. Le gène Myc est donc régulé par le cluster de régulation du gène des Ig. On aura donc une protéine myc normale, mais en quantité anormale. L'oncogène Myc est en fait composé de trois exons 1, 2 et 3. La translocation implique les exons 2 et 3 : l'exon 1 n'est pas codant donc ce n'est pas une grande perte. Ces deux exons sont rattachés en proximité du locus de régulation du gène des Ig.

=> Lymphome de Burkitt 8/14



The Cell, A Molecular Approach, GM Cooper

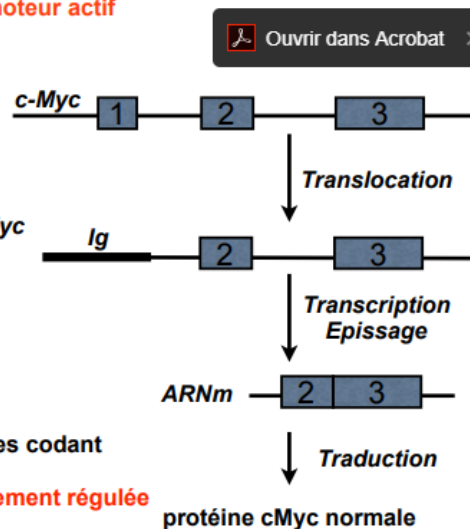
## 2. Translocation chromosomique

=> passage sous le contrôle de promoteur actif

=> Lymphome de Burkitt 8/14

Déplacement du proto-oncogène *c-Myc*  
en proximité du locus des gènes  
des Immunoglobulines

*c-Myc* passe sous le contrôle des gènes codant  
les chaînes lourdes des Ig  
=> son expression n'est plus normalement régulée



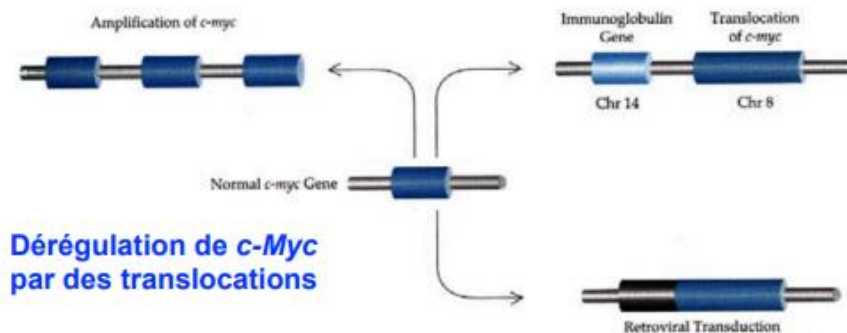
### c. L'insertion virale

Des virus viennent s'insérer dans le génome, dans ou à proximité d'un proto-oncogène, activant son expression. Le proto-oncogène passe sous la régulation des LTR (L'oncogène passe sous le contrôle du promoteur du virus). Ce sont les rétro-virus : ils ont la capacité de s'intégrer dans le génome car ils sont sous forme ARN et ils ont besoin de passer sous forme ADN.

Les promoteurs viraux sont généralement des promoteurs beaucoup plus fort.

Il y a donc trois modifications quantitatives qui peuvent augmenter la quantité de protéines codée par le gène *Myc* : amplification (neuroblastome), translocation (lymphome de Burkitt) et l'insertion virale

→ **HYPEREXPRESSION**



### d. Stabilisation de l'ARNm :

On peut aussi avoir au niveau des ARNm des modulations de la durée de vie des ARNm : stabilisation des ARNm, **augmentation de leur 1/2 vie.**

Si on augmente la  $\frac{1}{2}$  vie de l'ARNm, il sera plus traduit et on aura de plus "produit".

### e. Stabilisation des protéines :

De même au niveau de la protéine : augmentation de la  $\frac{1}{2}$  vie en **bloquant sa dégradation via le protéasome.**

## II. Coopération entre oncogènes :

Heureusement, une seule mutation peut être nécessaire mais pas suffisante. Il y a une coopération entre oncogènes et entre gènes suppresseurs. C'est un jeu entre gain de prolifération et perte de frein.

Les oncogènes n'ont pas tous la même capacité. Les cellules cancéreuses ont deux caractéristiques, elles sont **immortelles et transformantes** in vitro => capacité à proliférer de façon continue et **responsable de la progression tumorale** in vivo. **Un seul oncogène ne suffit pas** pour développer ces capacités : il faut de la **coopération entre oncogène**.

Exemple expérience :

- Cellules normales avec surexposition de Ras : pas beaucoup d'effet sur la cellule, ne produit pas de cancer. Pareil avec une surexposition de Myc.
- Cellule normales avec surexpression de Ras et de Myc : effet plus important, on observe donc une coopération entre les oncogènes.

En modifiant le génome des souris (expression Myc ou Ras), on évalue en fonction du temps, le temps que les souris mettent à développer une tumeur.

- Surexprime Myc : Plus de 100 jours avant une tumeur.
- Surexprime Ras : Plutôt 50 jours, mais toujours la moitié sans tumeur à 150 jours.
- Surexprime les 2 : Au bout de 150 jours, elles ont toutes développé une tumeur.

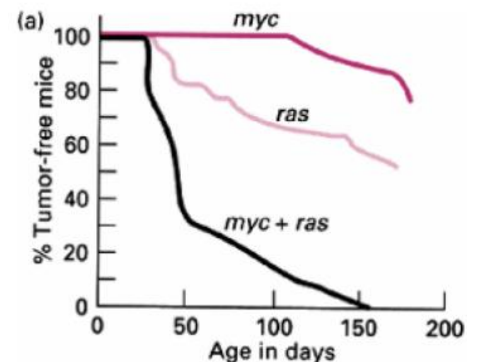
On voit que quand elles sur-expriment les deux oncogènes, les souris mettent beaucoup moins de temps à développer des tumeurs.

De plus, les oncogènes n'ont pas la même force : Ras est plus en amont dans les cascades que Myc. Quand Ras est activé, cela permet de phosphoryler le facteur de transcription Myc, qui devient alors plus stable et plus effectif. Cependant, Ras agit en cascade sur de nombreux gènes, pas uniquement sur Myc.

### 2 catégories d'oncogènes :

- les **immortalisant** : qui empêchent les fibroblastes embryonnaires d'atteindre de la sénescence  
# myc, myb, jun, fos, bcl2
- les **transformant** qui altèrent les cellules morphologiquement, empêchent la sénescence et rend les cellules tumorigéniques  
# ras, src, RTK

Myc —————> P-Myc :  
Stable  
**ras**



### Remarques :

- Thérapeutique : inhibiteurs ou Ac bloquant qui bloquent des suractivités d'oncogènes. C'est pour cela qu'on doit identifier les mutations : pour élaborer les thérapeutiques. On cherche les mutations qui vont permettre de proposer une thérapie et les mutations qui pourraient entraîner des résistances aux thérapeutiques.
- Pour les oncogènes, les mutations sont souvent les mêmes : on parle de point chaud de mutation. Alors que pour les gènes suppresseurs, il y a beaucoup de moyen de les modifier.