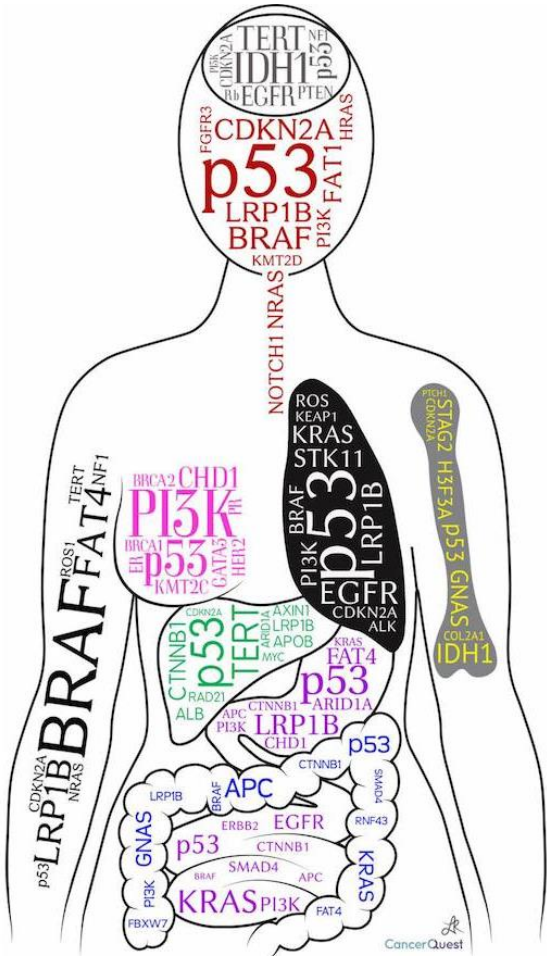
Facultad de Medicina
Clínica Alemana - Universidad del Desarrollo

INSTITUTO NACIONAL DEL CÁNCER CHILE



Oncogenes y Supresores de Tumores

Annemarie Ziegler B., Ph.D.

Oncología Molecular

Agosto 2020

Objetivos

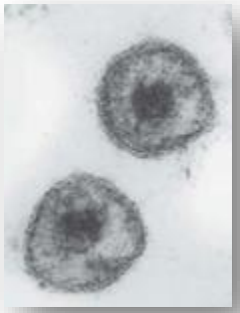
- Diferenciar la función de oncogenes y supresores de tumores
- Comprender los mecanismos de activación oncogénica
- Comprender los mecanismos de inactivación de genes supresores de tumores
- Conocer ejemplos de oncogenes y genes supresores de tumores alterados en cáncer

I. Oncogenes

Retrovirus oncogénicos

- Virus que causan tumores en animales
- Genoma: ssRNA
- Genoma contiene genes transformantes: ONCOGENES virales (*v*-onc)

Sarcoma aviar



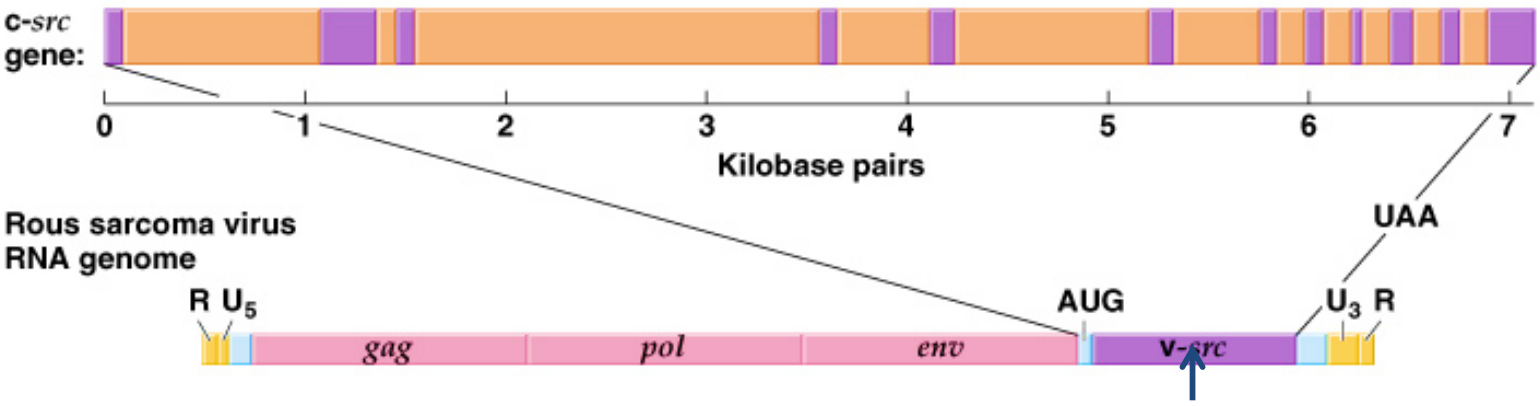
RSV

(Rous Sarcoma Virus)

Proto-oncogenes celulares (*c*-onc)

- Células eucariontes normales tienen genes similares a algunos oncogenes retrovirales

Versión normal: **proto-oncogen**



c-onc

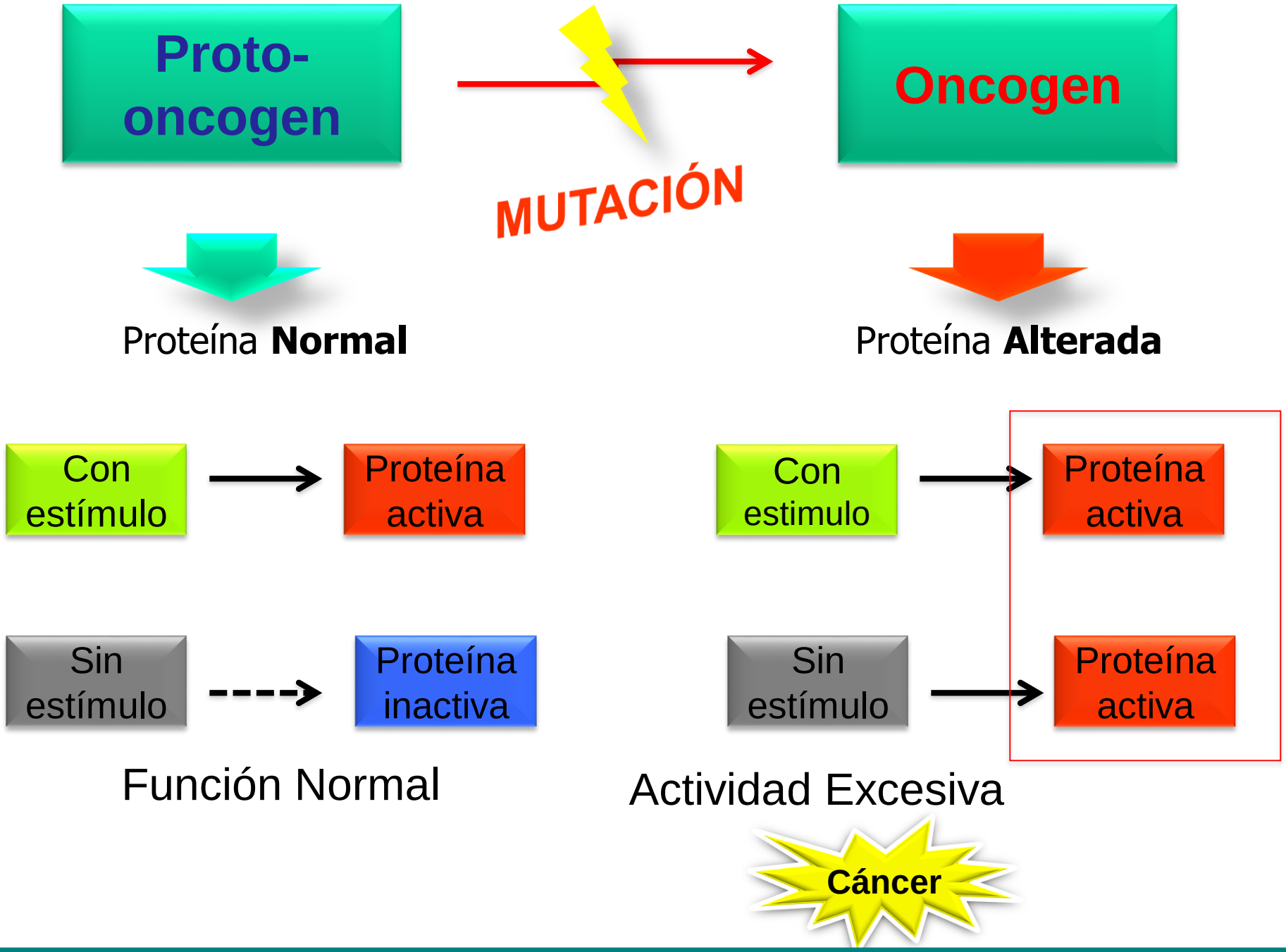
v-onc

Versión tumorigénica: **oncogen**

Viral disease	v-onc	c-onc	Location	Function
Simian sarcoma	*v-sis*	*PDGFB*	22q13.1	Platelet-derived growth factor B subunit
Chicken erythroleukemia	*v-erb-b*	*EGFR*	7p13-q22	Epidermal growth factor receptor
McDonough feline sarcoma	*v-fms*	*CSF1R*	5q33	Macrophage colony-stimulating factor receptor
Harvey rat sarcoma	*v-ras*	*HRAS1*	11p15	Component of G-protein signal transduction
Abelson mouse leukemia	*v-abl*	*ABL*	9q34.1	Protein tyrosine kinase
Avian sarcoma 17	*v-jun*	*JUN*	1p32-p31	AP-1 transcription factor
Avian myelocytomatosis	*v-myc*	*MYC*	8q24.1	DNA-binding protein
Mouse osteosarcoma	*v-fos*	*FOS*	14q24.3-q31	DNA-binding transcription factor

ONCOGEN

PROTO-ONCOGEN

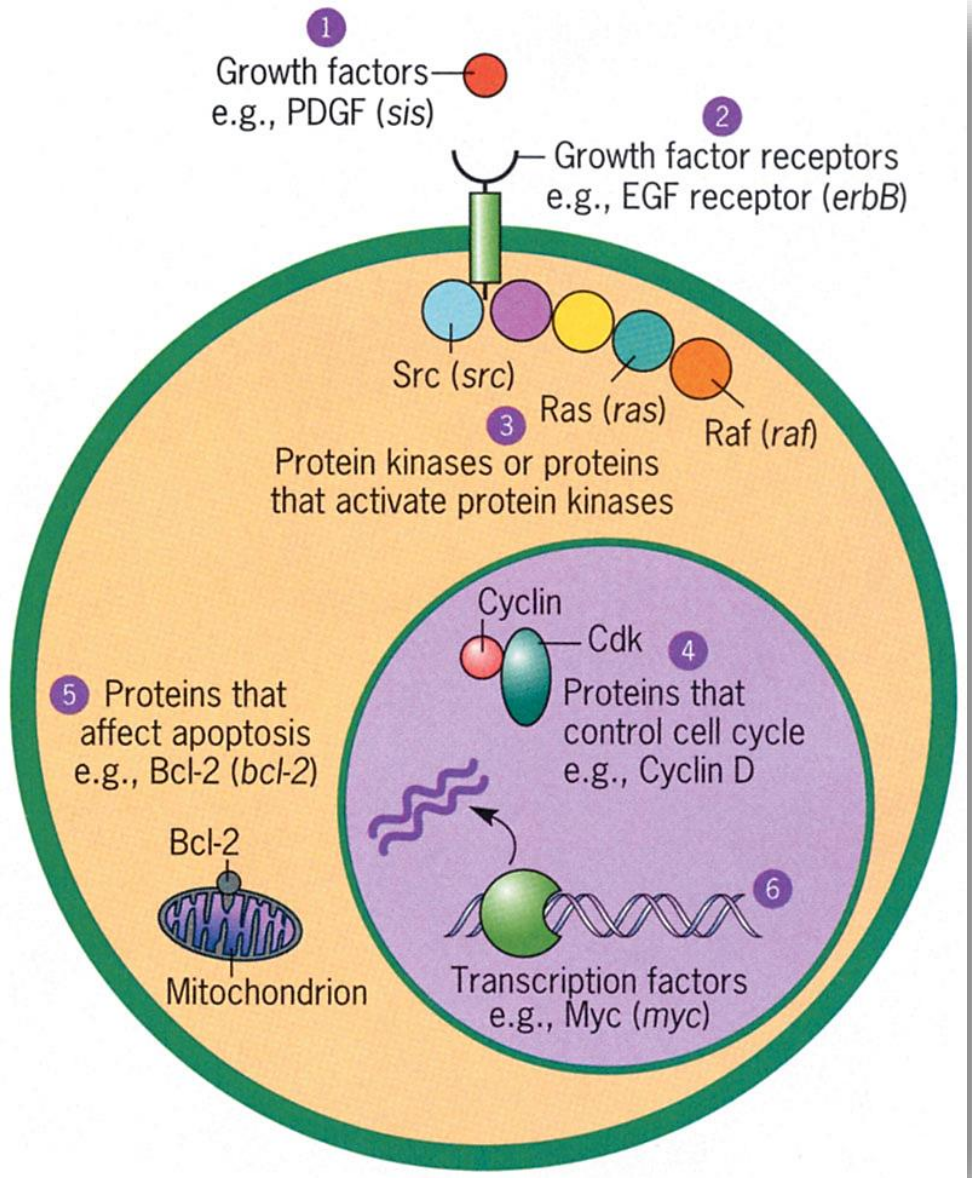

Proto-oncogen
MUTACIÓN
Oncogen
Proteína Normal
Proteína Alterada
Con estímulo
Proteína activa
Sin estímulo
Proteína inactiva
Función Normal
Con estimulo
Proteína activa
Sin estímulo
Proteína activa
Actividad Excesiva
Cáncer

Función NORMAL de los Proto-Oncogenes

- Factores de crecimiento y sus receptores
- Componentes de vías de transducción de señales
- Factores de transcripción
- Componentes del ciclo celular (p.ej. ciclinas)

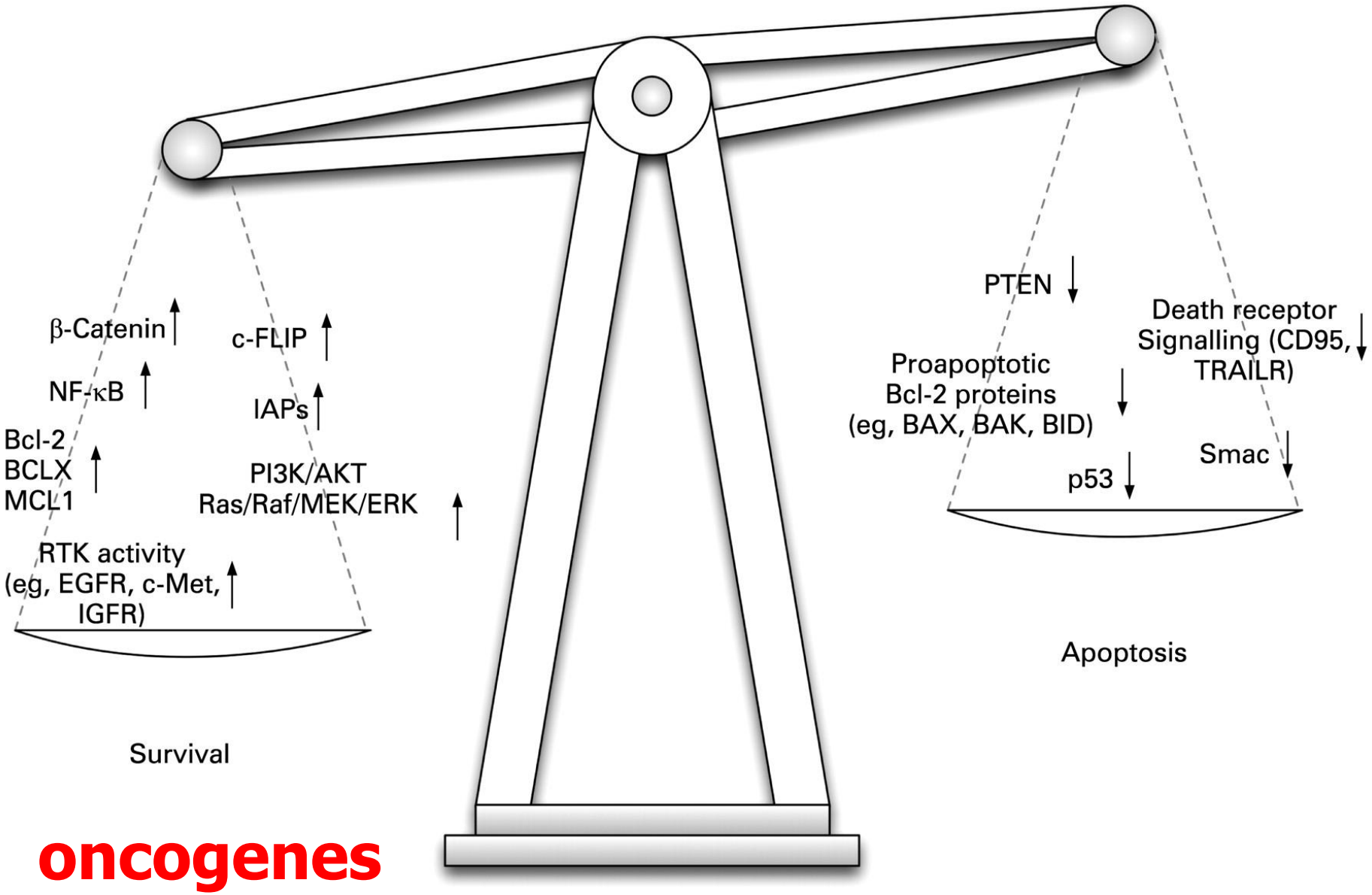
En general: **favorecen replicación celular**
contrarrestan apoptosis

Función de proto-oncogenes



Cell and Molecular Biology 4th Ed. 2005

Crecimiento Celular



oncogenes

Activación de proto-oncogenes

– Proto-oncogenes cumplen funciones celulares normales y reguladas

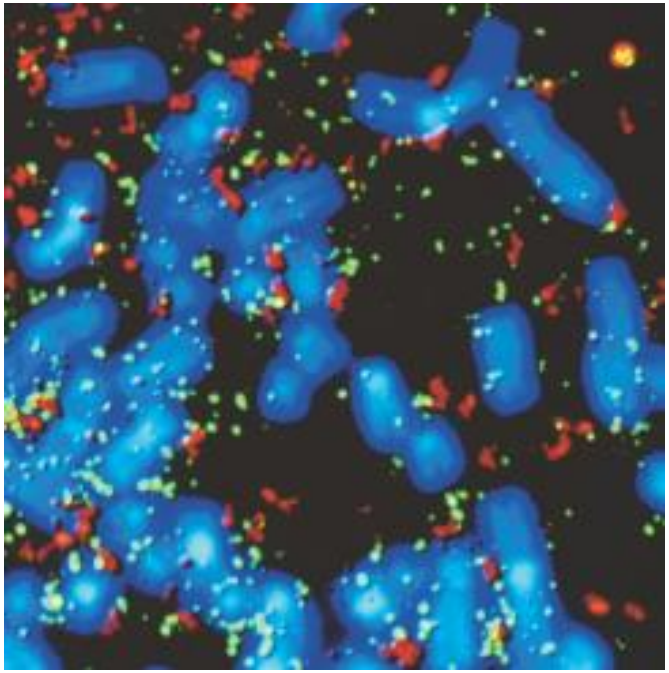
– Mutaciones con **ganancia de función** (dominantes)

– 4 mecanismos básicos de activación

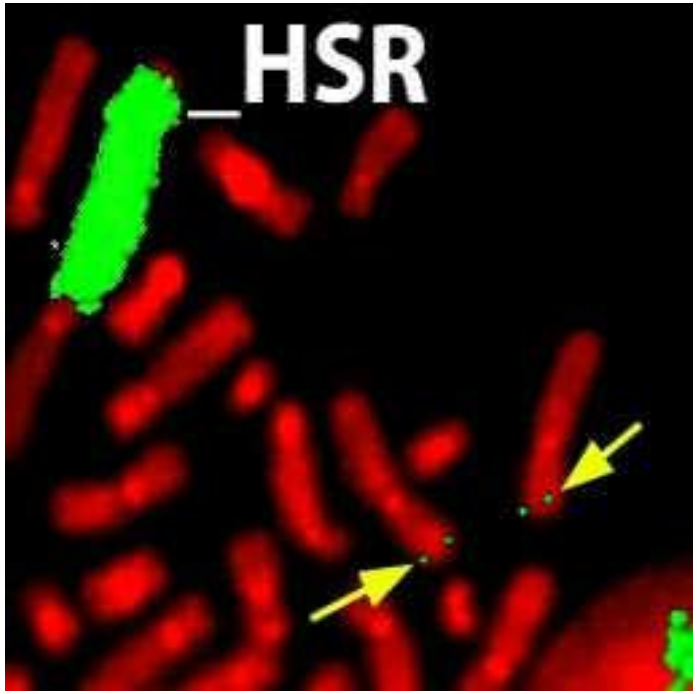
1. Amplificación génica

Ej.: N-MYC en neuroblastoma

Dos mecanismos

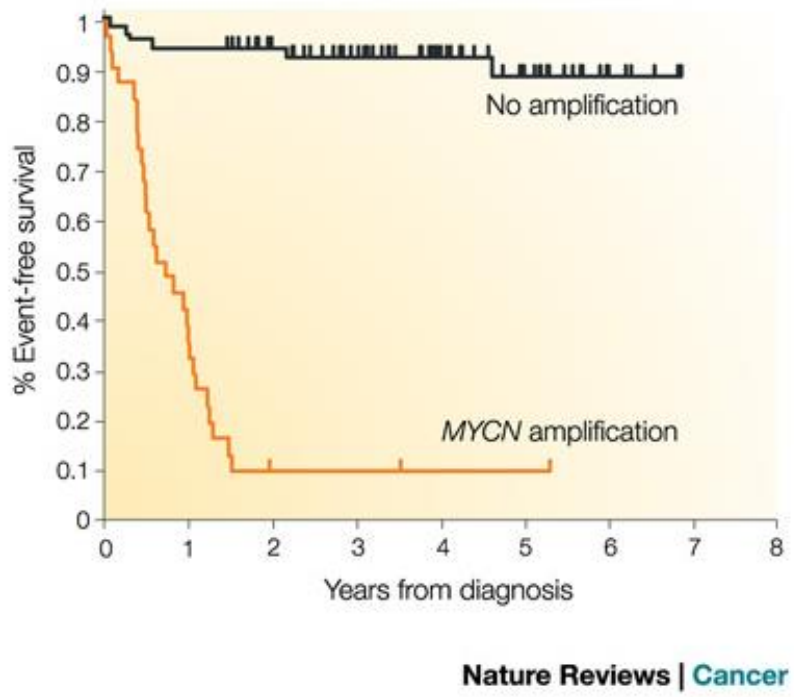


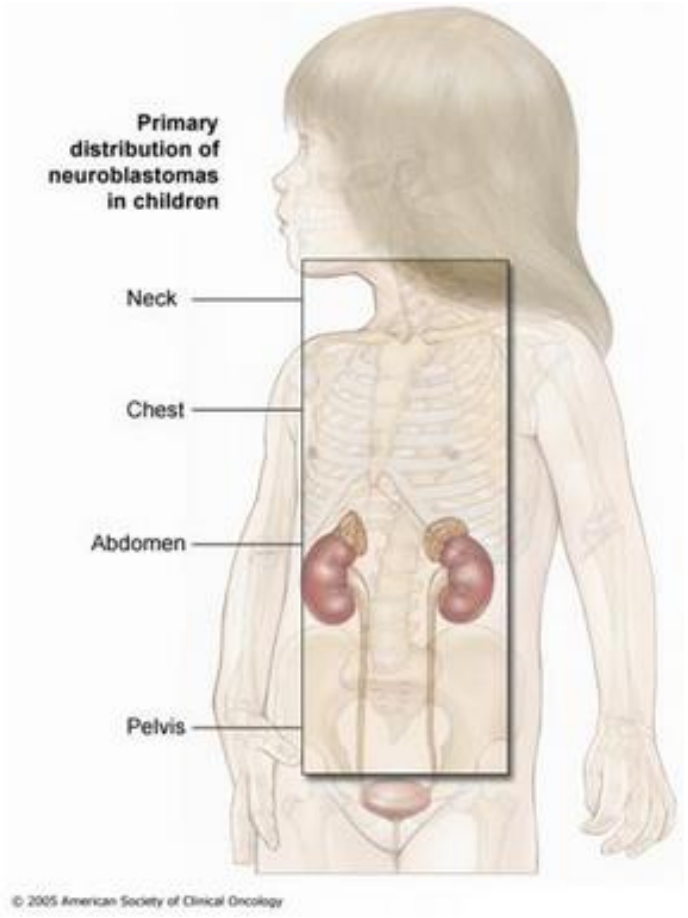
dobles minutas



HSR=regiones de tinción homogénea

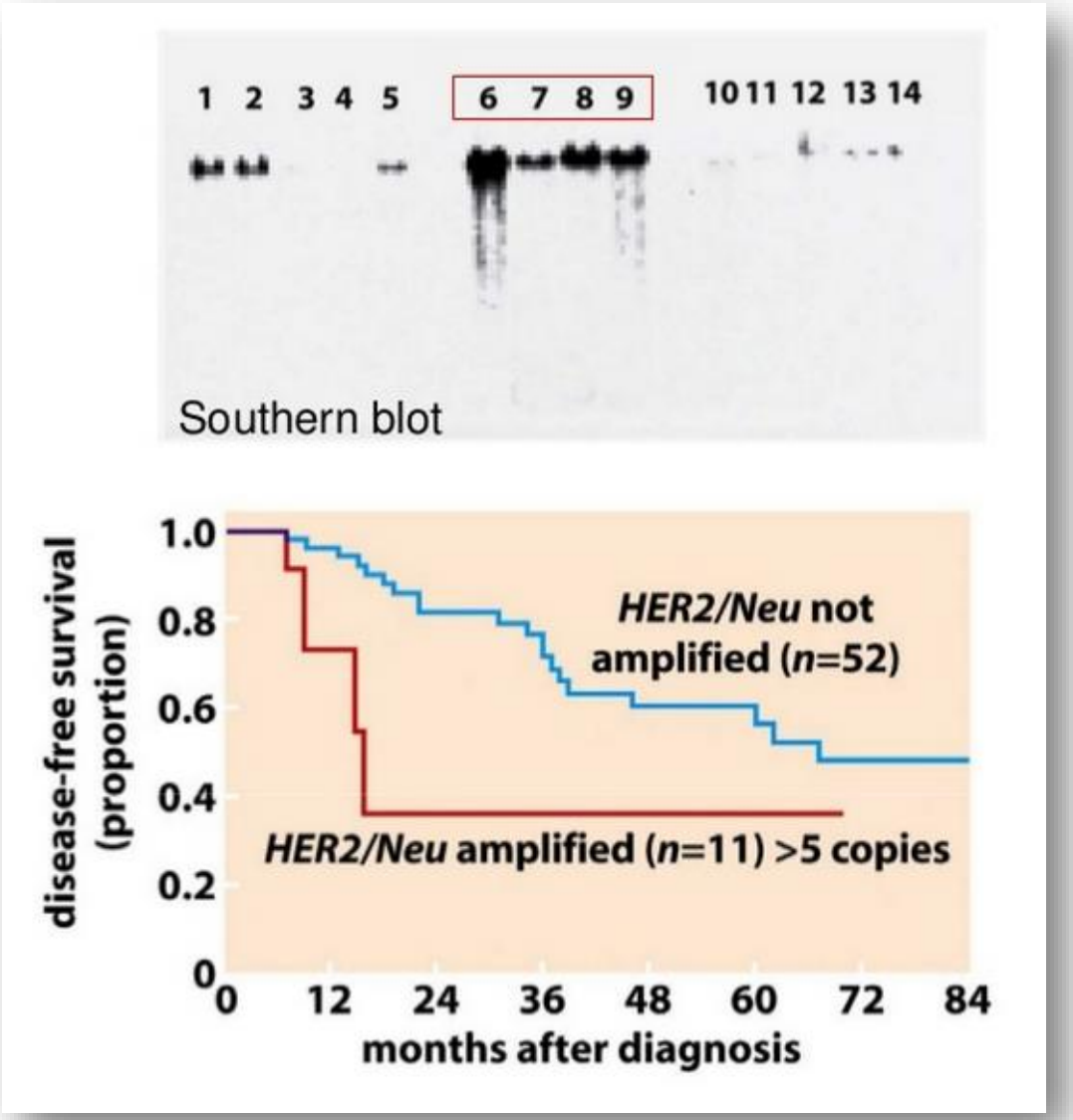
Neuroblastoma: Amplificación de N-Myc y sobrevida





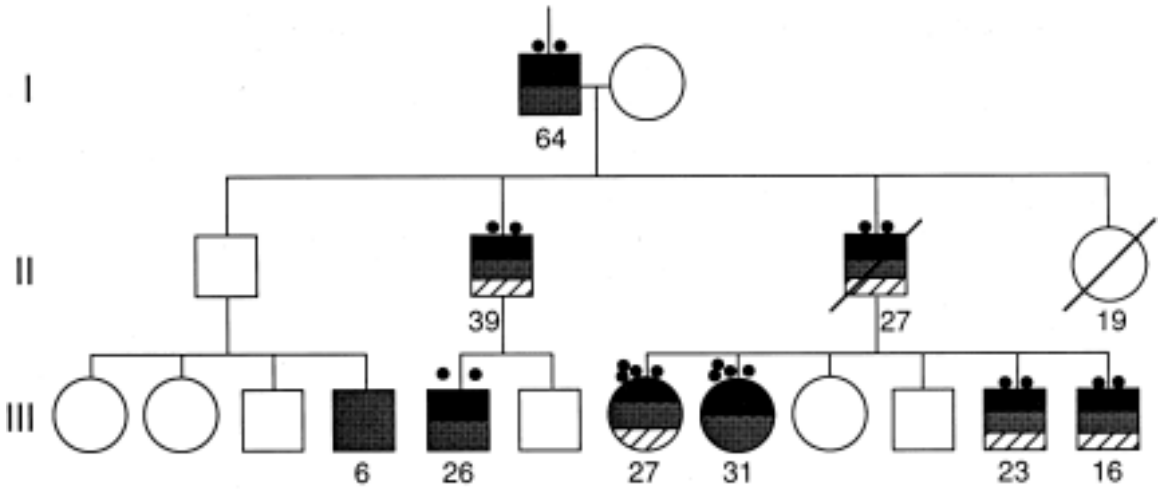
Factor pronóstico

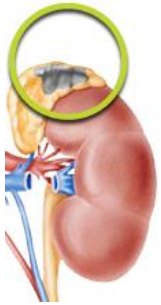
Amplificación de oncogen erb2/Neu en cáncer de mama



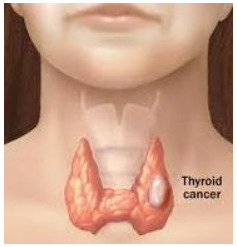
2. Mutaciones puntuales

Ej.: Neoplasia endocrina múltiple 2A (MEN-2A)y oncogen RET





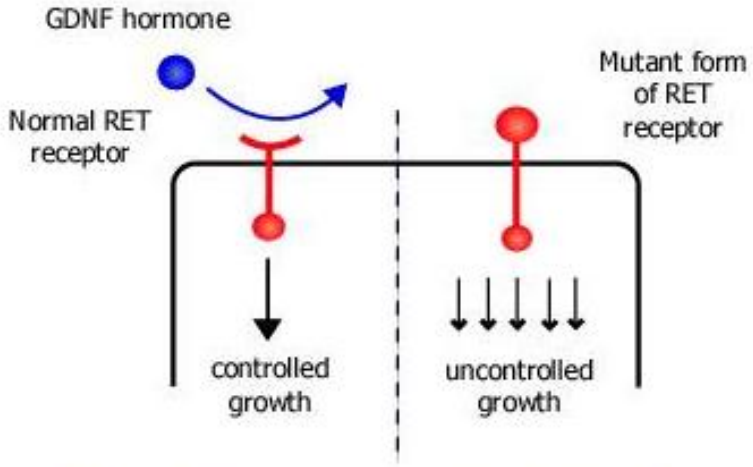
Pheochromocytoma
Medullary thyroid carcinoma
Hyperparathyroidism



Oncogen RET en MEN2A

- Tirosina kinasa, receptor para Factor de crecimiento derivado de glia (GDGF), un factor neurotrófico

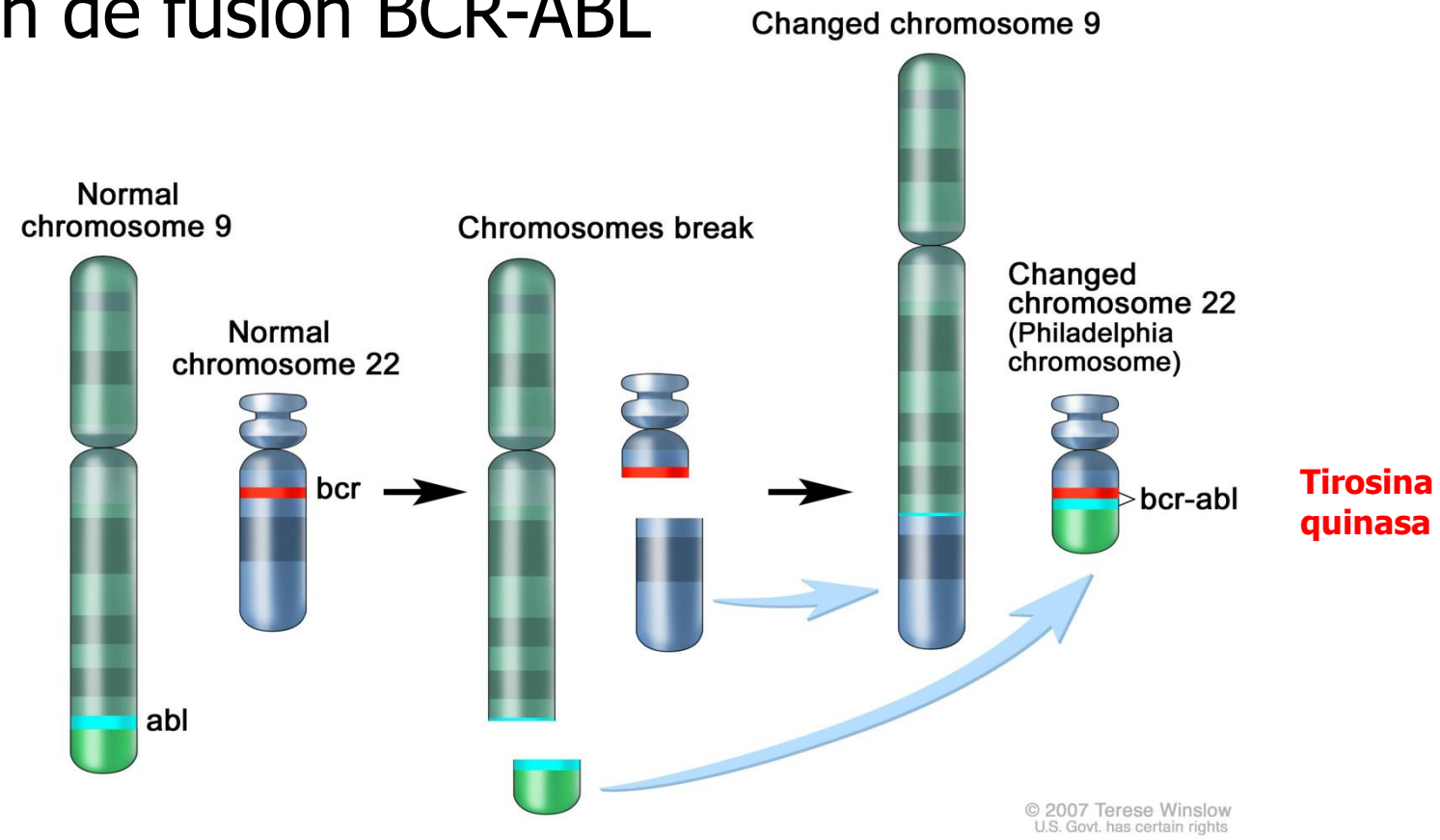
- Mutaciones con ganancia de función activan constitutivamente el receptor en ausencia del ligando



50% de los casos son hereditarios

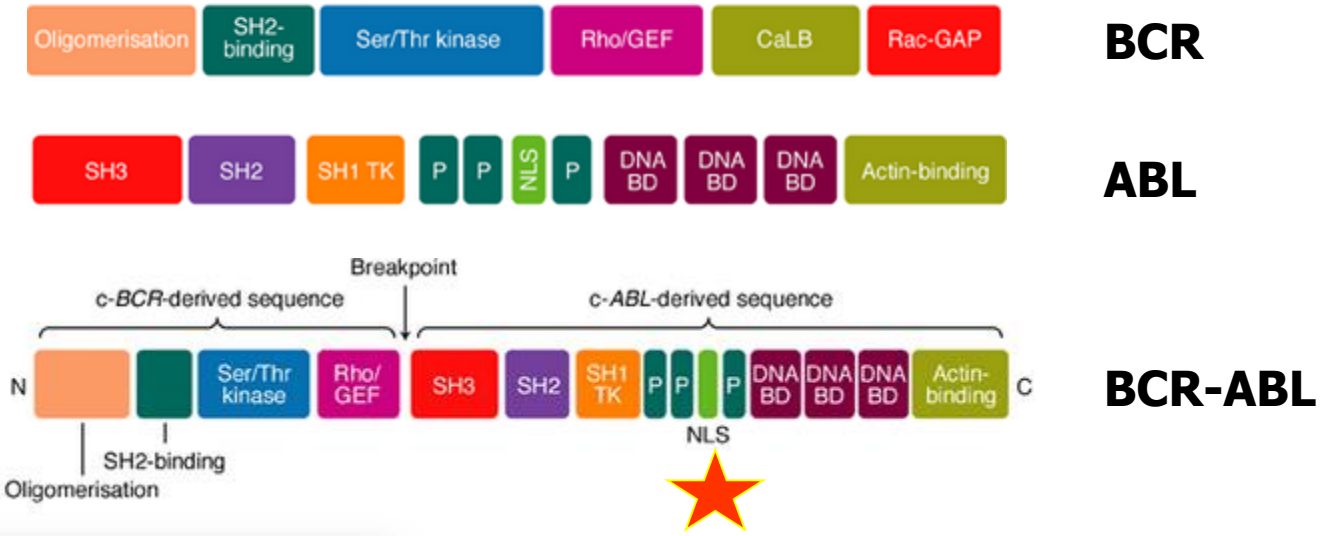
3. Translocaciones: Proteínas quiméricas

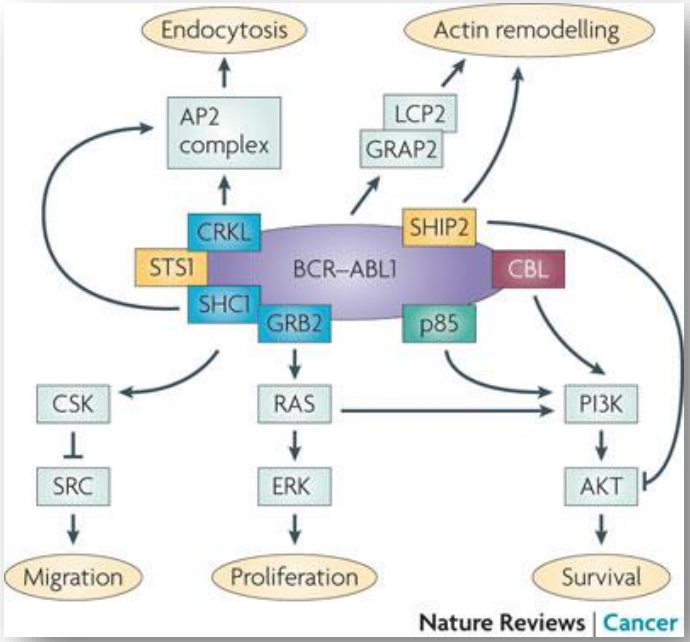
Ej.: Gen de fusión BCR-ABL



- Leucemia mieloide crónica (LMC), ocasionalmente otras (leucemias linfoblástica aguda, LLA y mieloide aguda, LMA)

Proteína de fusión p210 BCR-ABL:





Activación constitutiva de ABL (tirosina quinasa):

- Aumento de proliferación
- Disminución de adherencia
- Inhibición de apoptosis

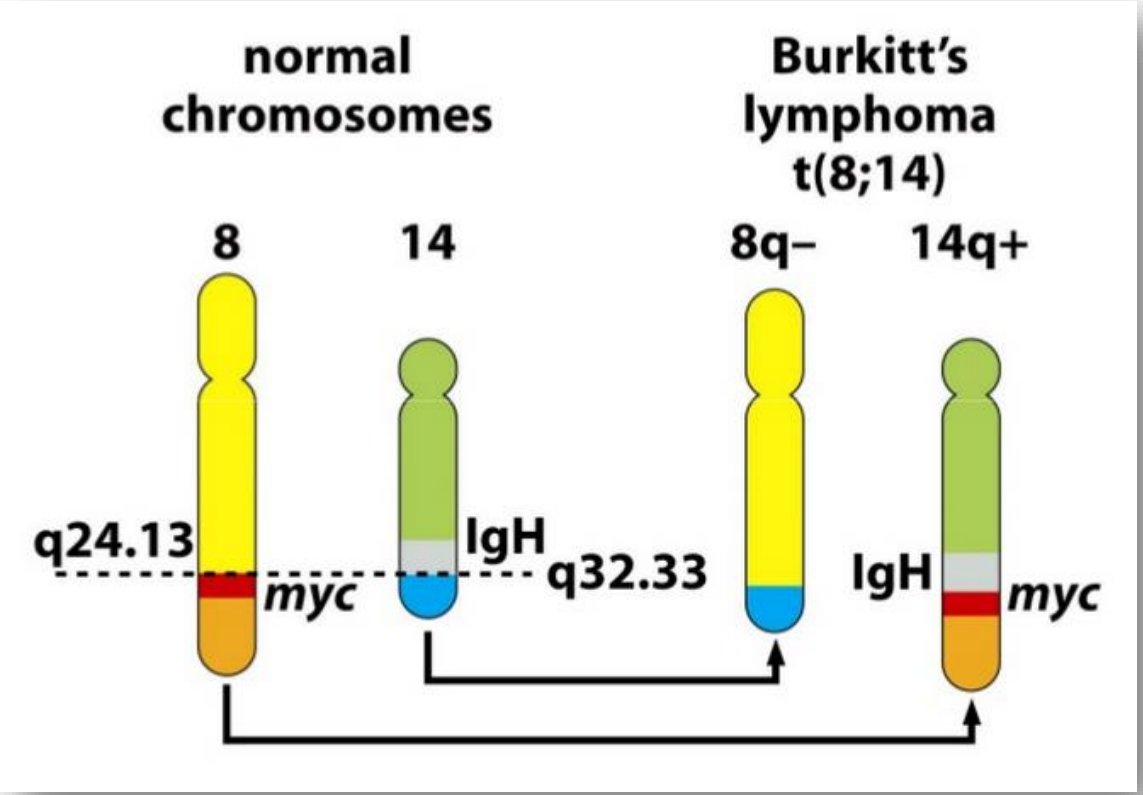
Nature Reviews Cancer (2010) doi:10.1038/nrc2900

Proteínas de fusión oncogénicas:

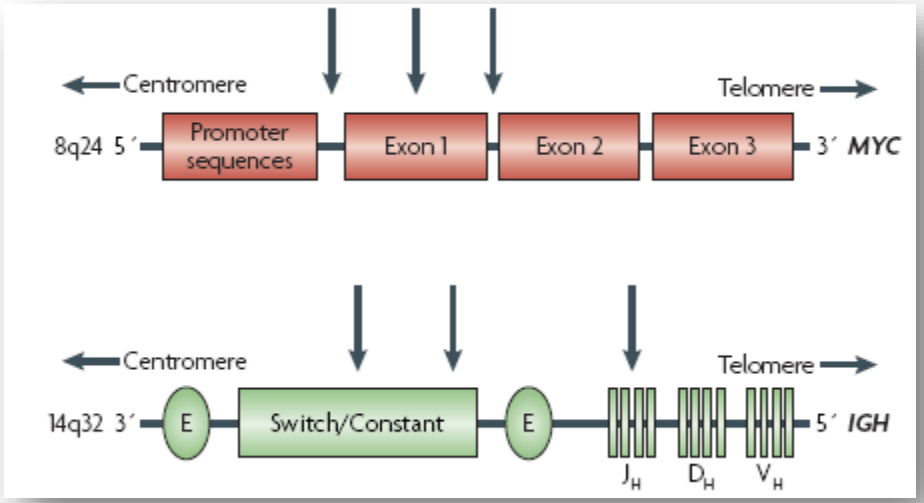
Oncogene	Neoplasm
bcr/abl	chronic myelogenous leukemia; acute lymphocytic leukemia
dek/can	acute myeloid leukemia
E2A/pbx1	acute pre-B-cell leukemia
PML/RAR	acute promyelocytic leukemia
tls/erg	myeloid leukemia
irel/urg	B-cell lymphoma
CBFβ/MYH11	acute myeloid leukemia
aml1/mtg8	acute myeloid leukemia
ews/fli	Ewing's sarcoma
lyt-10/Cα1	B-cell lymphoma
hrx/enl	acute leukemias
hrx/af4	acute leukemias
NPM/ALK	large-cell lymphomas
PAX3/FKHR	alveolar rhabdomyosarcoma
EML4/ALK	non-small-cell lung cancer
MLL/various	acute leukemias

4. Traslocación de gen a región activa transcripcionalmente

Ej: Translocación t(8;14)(q24 q32)

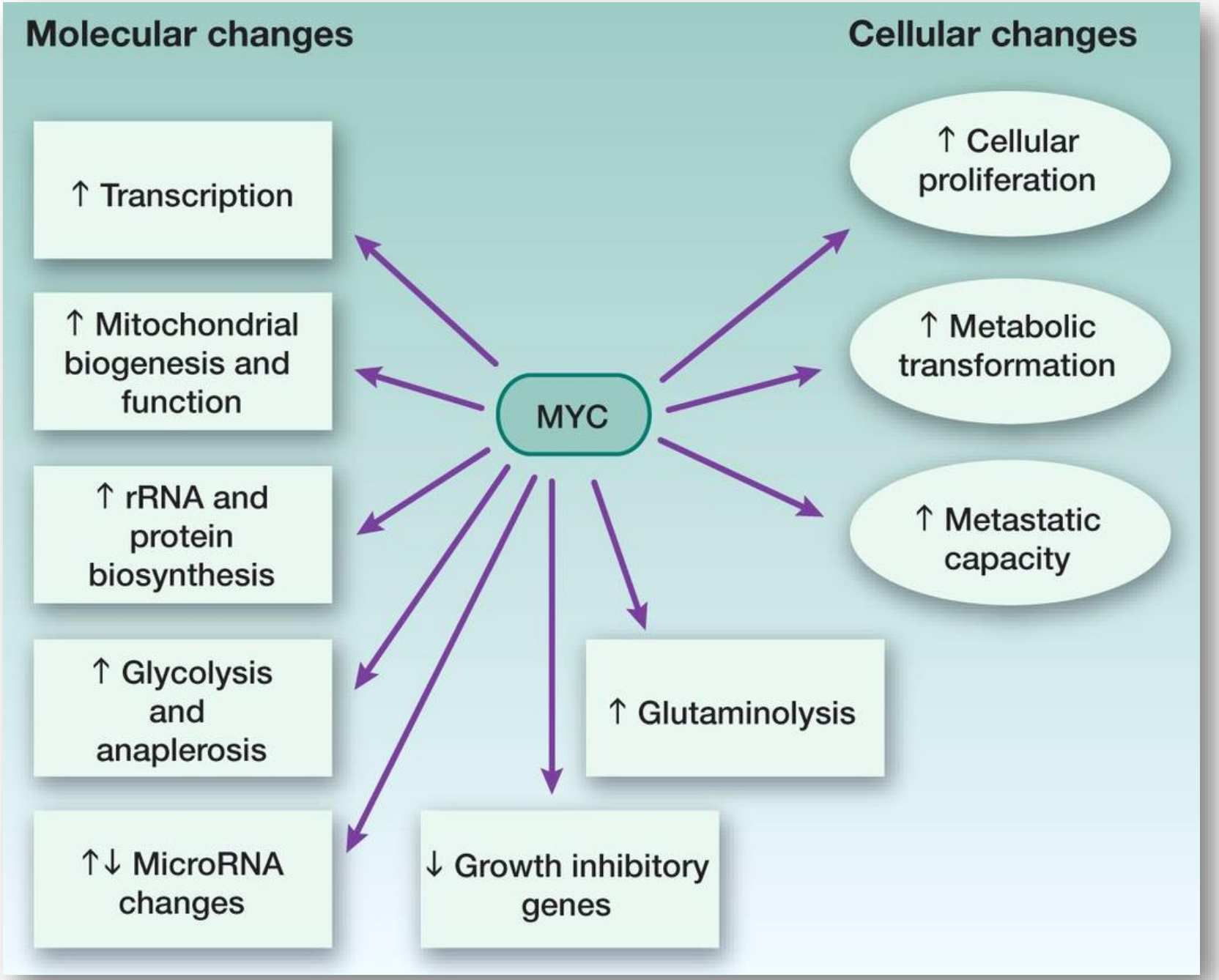


t(8;14) y linfoma de Burkitt's:



E = Enhancer

Consecuencia: Sobre-expresión de c-MYC

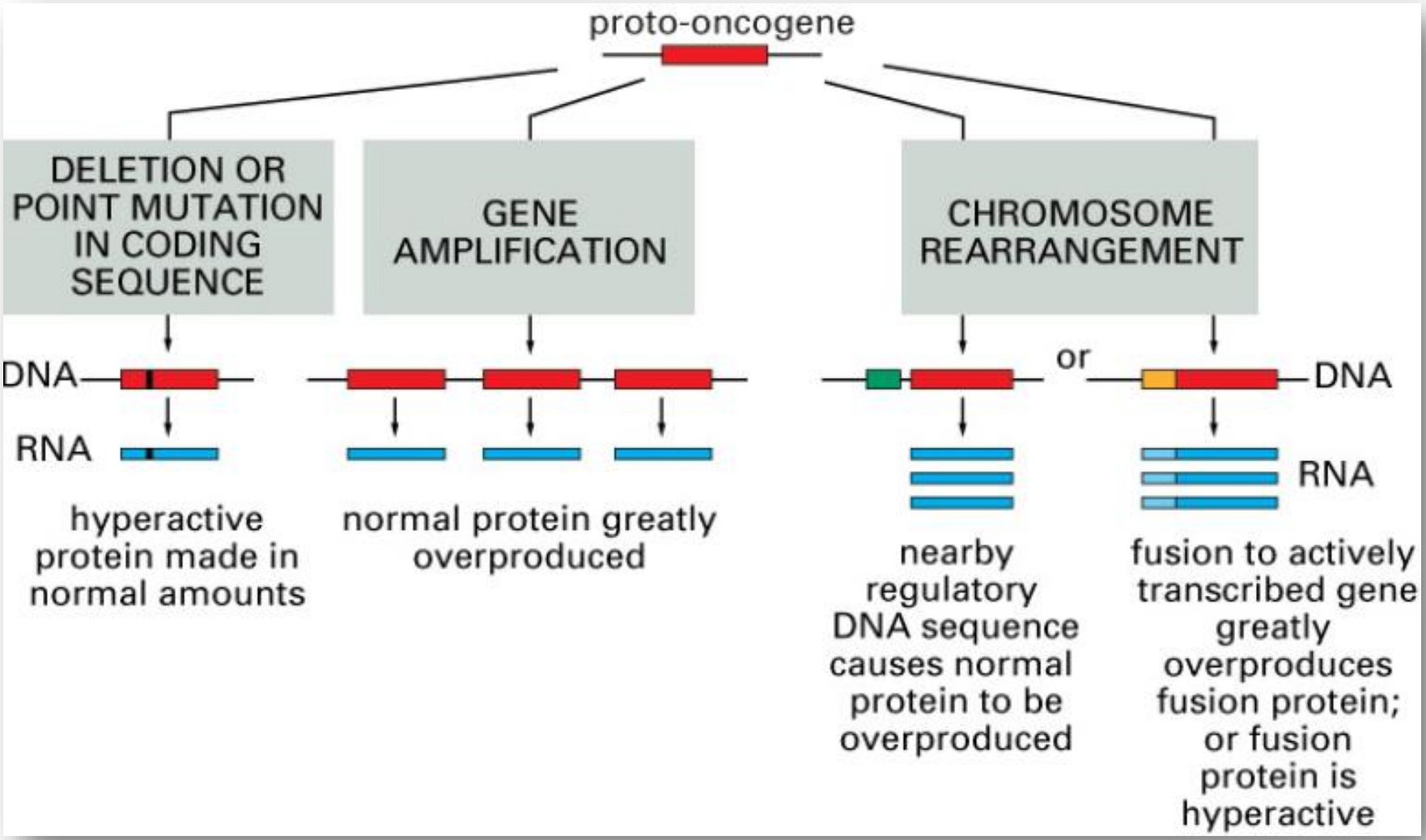


Clin Cancer Res (2012) doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0977

Translocaciones con activación transcripcional:

Oncogene	Neoplasm
myc	Burkitt's lymphoma; other B- and T-cell malignancies
bcl-2	follicular B-cell lymphoma
bcl-3	chronic B-cell lymphoma
bcl-6	diffuse B-cell lymphoma
hox1	acute T-cell leukemia
lyl	acute T-cell leukemia
rhom-1	acute T-cell leukemia
rhom-2	acute T-cell leukemia
tal-1	acute T-cell leukemia
tal-2	acute T-cell leukemia
tan-1	acute T-cell leukemia
ETV-1, ETV-4	prostate carcinoma
ERG	prostate carcinoma

Resumen Mecanismos de activación



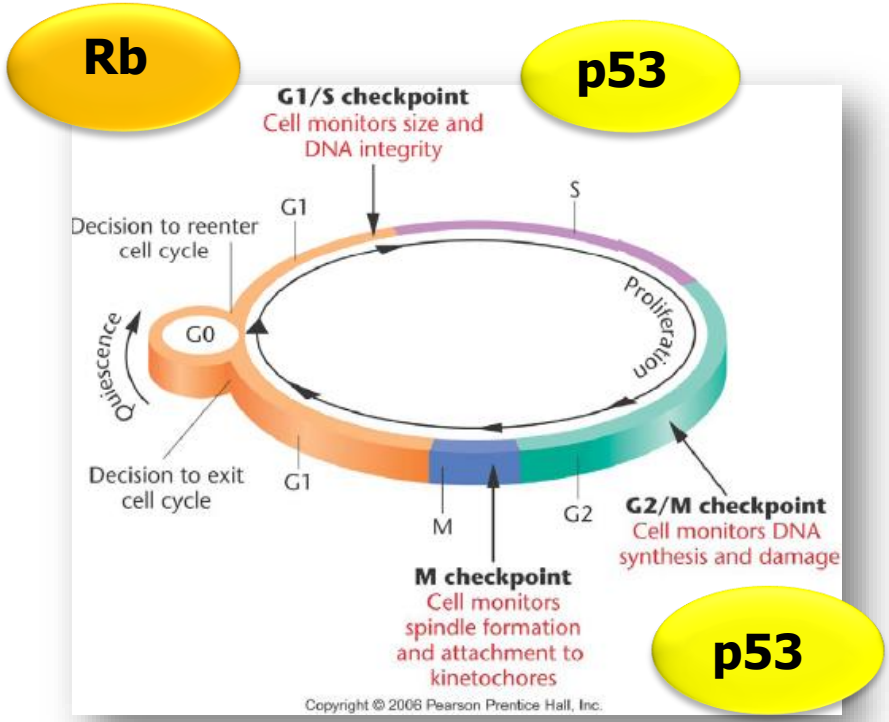
Molecular Biology of the Cell (4th Edition)

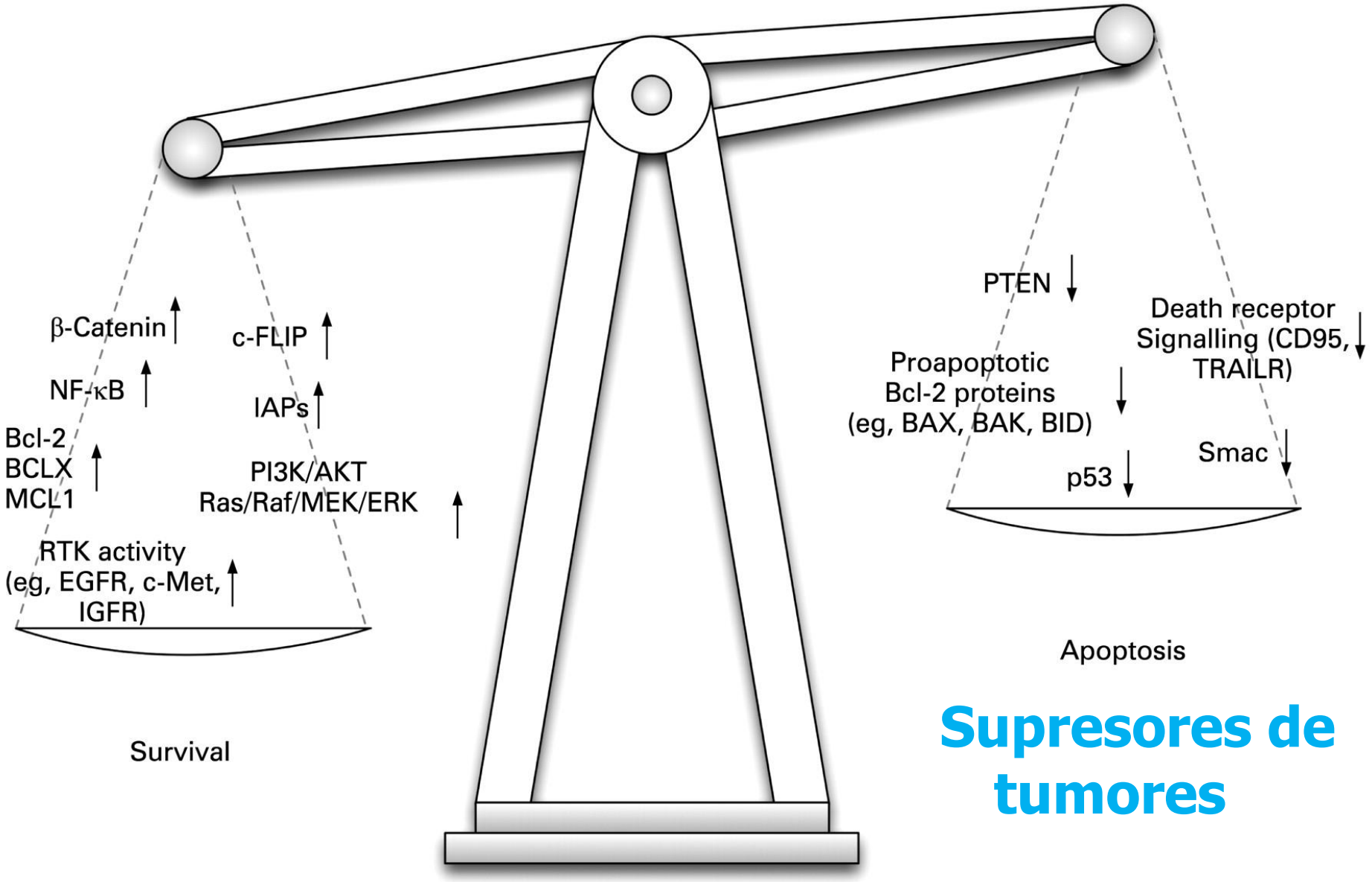
II. Genes supresores de tumores

Genes supresores de tumores

- Función normal: Control del ciclo celular, estructura cromatina, enzimas mitoncodriales, degradación protéica, etc.

- Mutaciones por **pérdida de función** (recesivas)
- >700 genes

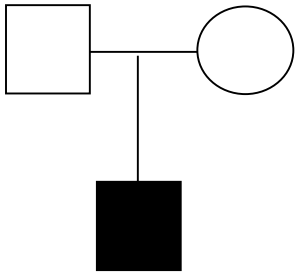




Supresores de tumores

Genes supresores de tumores

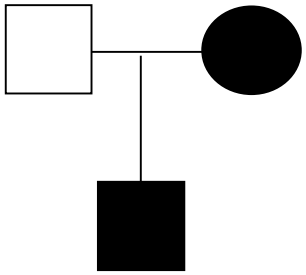
A. Knudson 1971: Retinoblastoma



Casos esporádicos (60%)

Unilateral

Dg: 7-10 años

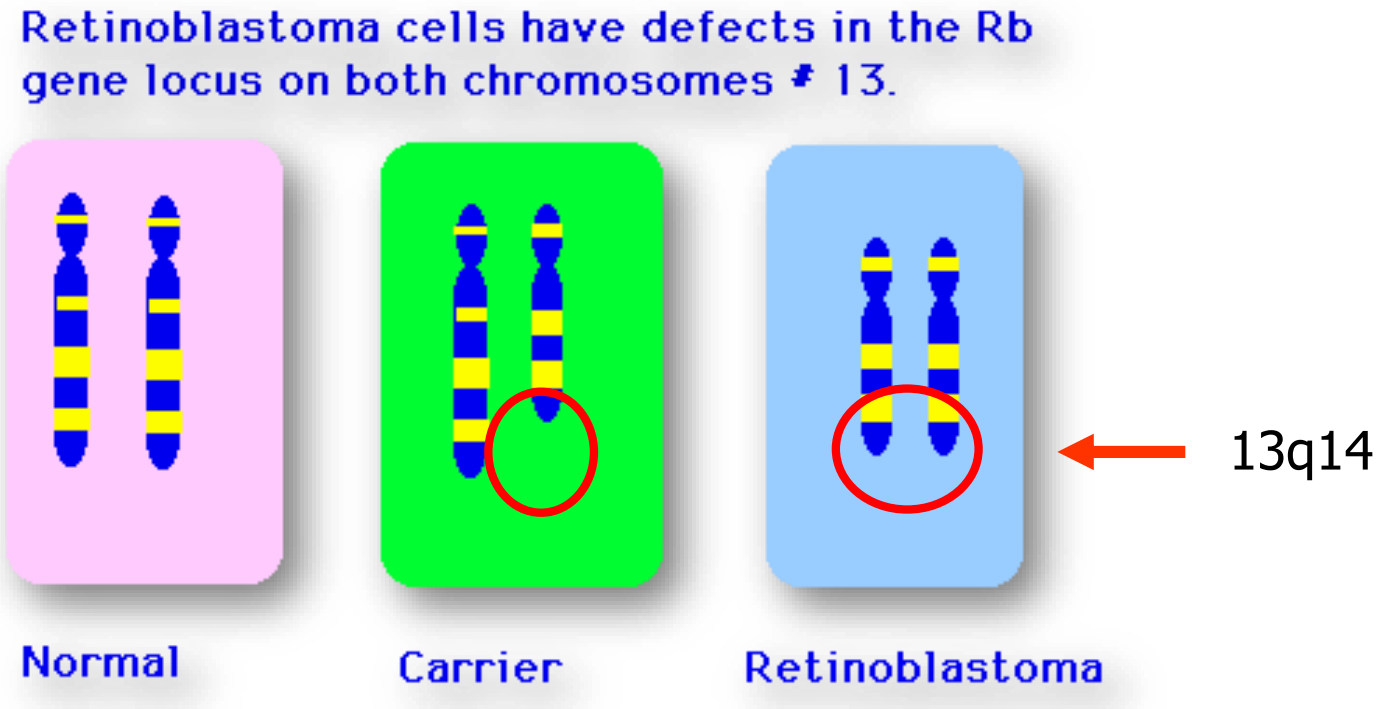


Casos familiares, AD

Frec. Bilaterales

Dg. 1er año

Inactivación de Rb

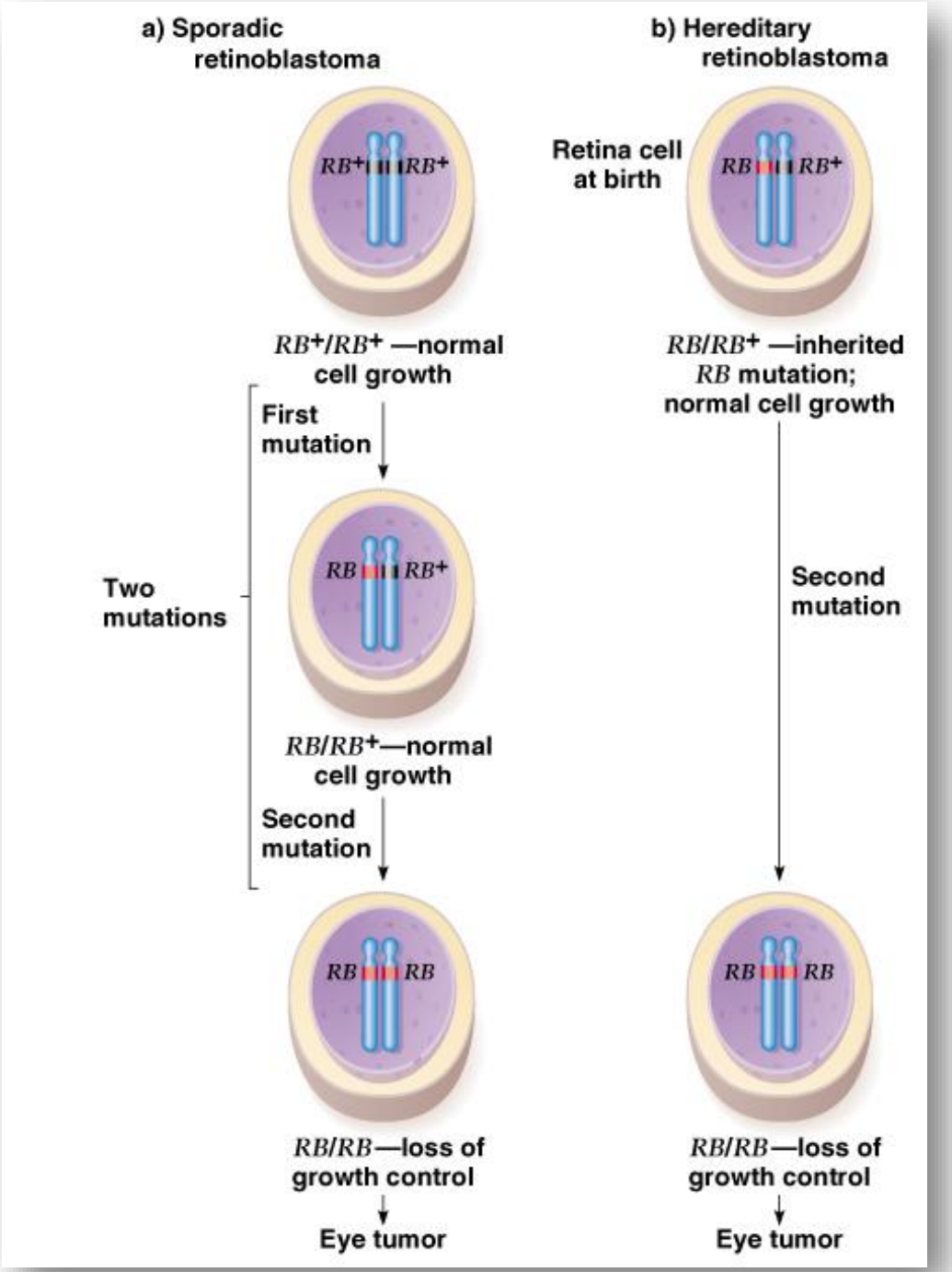


Supresores de tumores: inactivación de ambas copias en el tumor

Knudson:

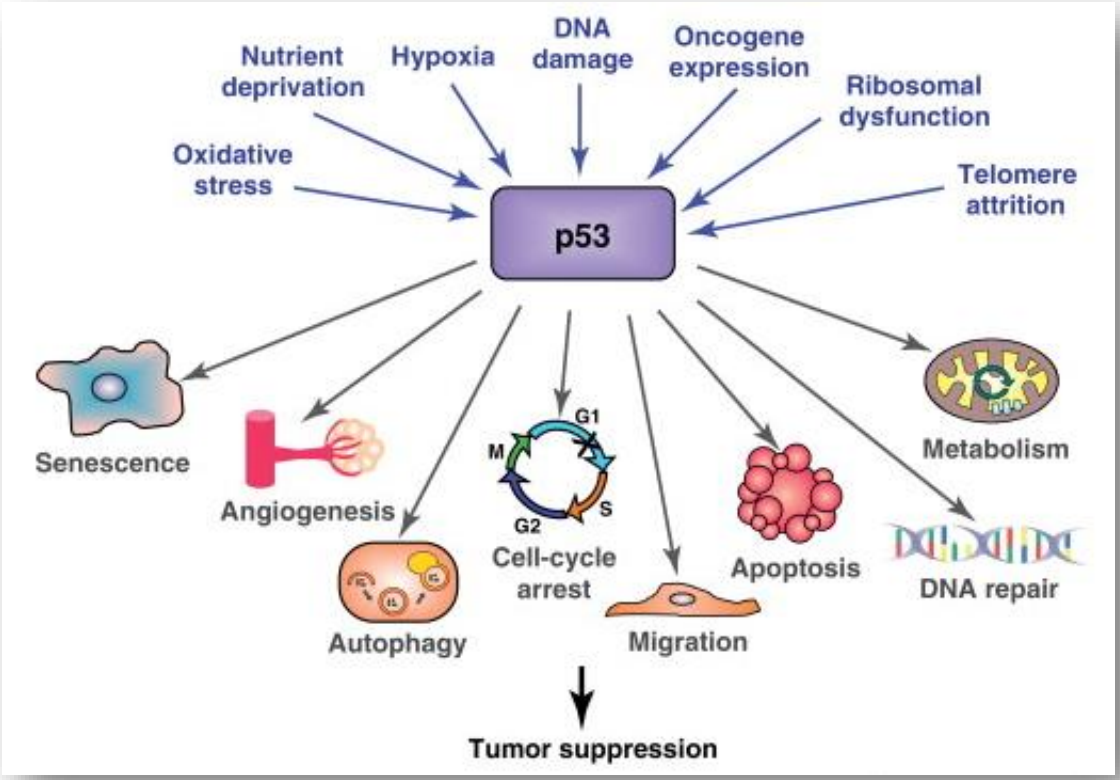
Hipótesis “Two-hit”

2 eventos mutacionales para un tumor



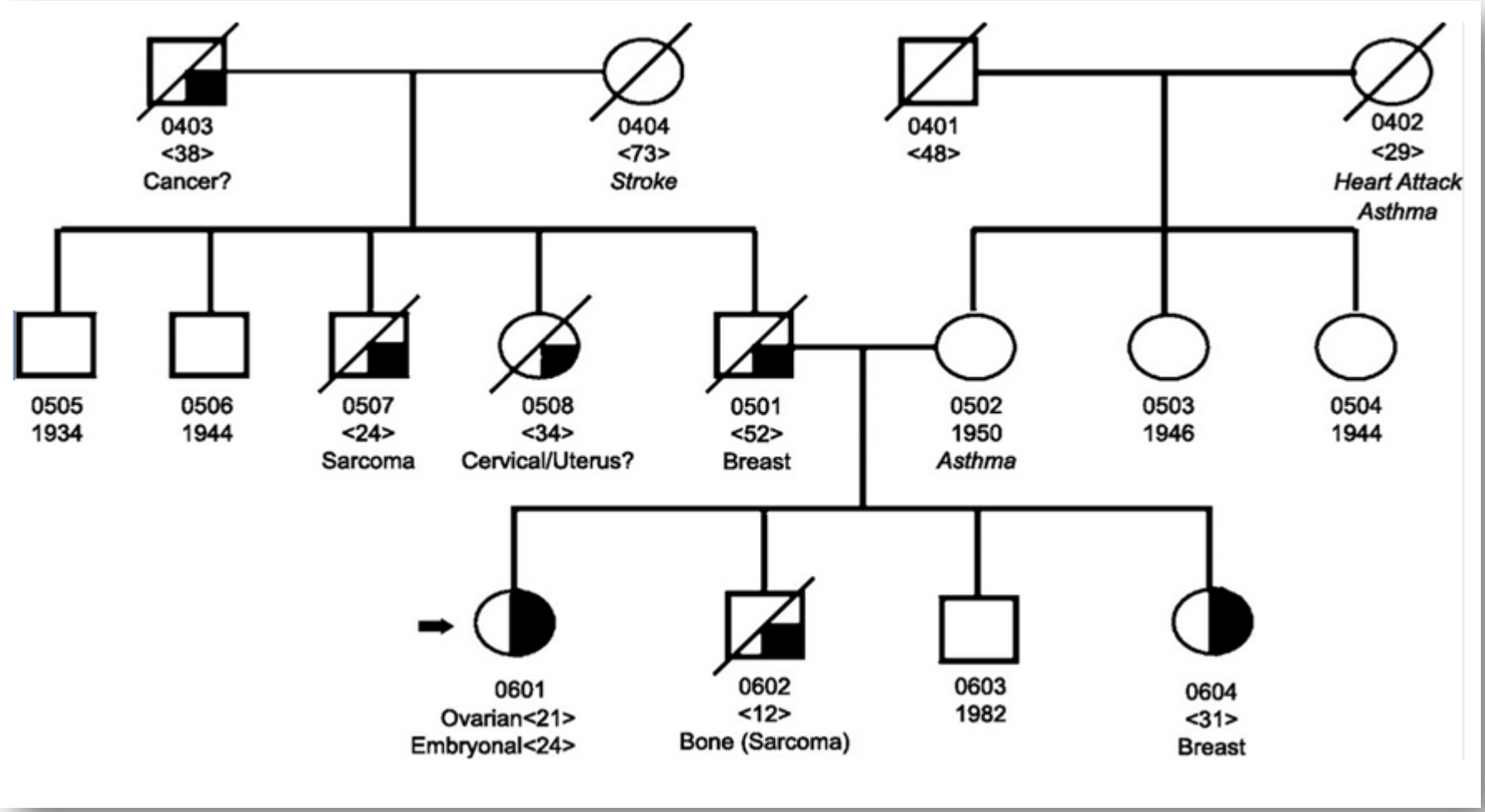
Supresor de tumores p53

- El gen con mayor tasa de mutación en tumores (mutaciones adquiridas)
- Cáncer hereditario: Li-Fraumeni



TICB (2012) doi:10.1016/j.tcb.2011.10.006

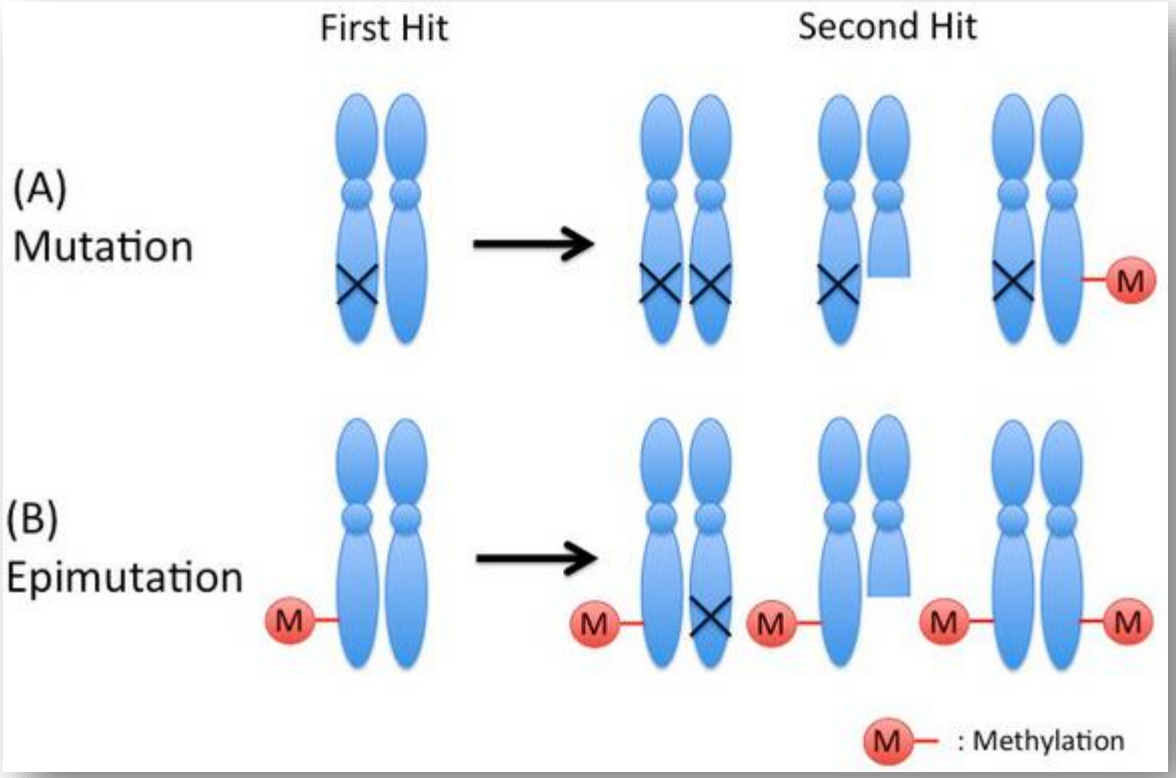
Síndrome de Li-Fraumeni



Autosómico Dominante – Expresividad variable

Inactivación de supresores de tumores

- Mutaciones puntuales
- Deleciones
- Silenciamiento



Tumor: 2 Eventos por célula

- Mutación puntual + deleción
- Mutación puntual + silenciamiento
- Silenciamiento (2x)
- Mutación (2x)

Table 7.1 Examples of human tumor suppressor genes that have been cloned

Name of gene	Chromosomal location	Familial cancer syndrome	Sporadic cancer	Function of gene product
SDHB	1p36.1	paraganglioma	—	succinate dehydrogenase
CHD5	1p36.31	cutaneous melanoma	many types	histone reader, transcriptional inducer
HRPT2	1q25–32	parathyroid tumors, jaw fibromas	parathyroid tumors	chromatin protein
FH	1q42.3	familial leiomyomatosis[a]	—	fumarate hydratase
FHIT	3p14.2	—	many types	diadenosine triphosphate hydrolase
BAP1	3p21.1	mesothelioma, melanoma	mesothelioma, uveal melanoma	ubiquitin hydrolase
RASSF1A	3p21.3	—	many types	multiple functions
TGFBR2	3p2.2	HNPCC	colon, gastric, pancreatic carcinomas	TGF-β receptor
VHL	3p25–26	von Hippel–Lindau syndrome	renal cell carcinoma	ubiquitylation of HIF
hCDC4	4q32	—	endometrial carcinoma	ubiquitin ligase
APC	5q21–22	familial adenomatous polyposis coli	colorectal, pancreatic, and stomach carcinomas; prostate carcinoma	β-catenin degradation
NKX3.1	8p21.2	—	prostate carcinoma	homeobox TF
miR-124a[b]	8p23.1	—	many types	suppresses CDK6
p16^{INK4A} [c]	9p21	familial melanoma	many types	CDK inhibitor
p14^{ARF} [d]	9p21	—	all types	p53 stabilizer

Table 7.1 (part 1 of 4) The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

III. Alteraciones Epigenéticas

Objetivos

- Comprender las bases moleculares de los mecanismos epigenéticos
- Comprender la participación de la epigenética en la generación de tumores
- Conocer implicaciones prácticas de la epigenética como marcadores y blancos terapéuticos

La epigenética es esencial en:

- Desarrollo embrionario
- Diferenciación tisular
- "Imprinting" génico
- Inactivación del cromosoma X
- Regulación de la expresión génica, especialmente en condiciones patológicas: cáncer
- Metilación génica como blanco terapéutico

¿ Son idénticas?

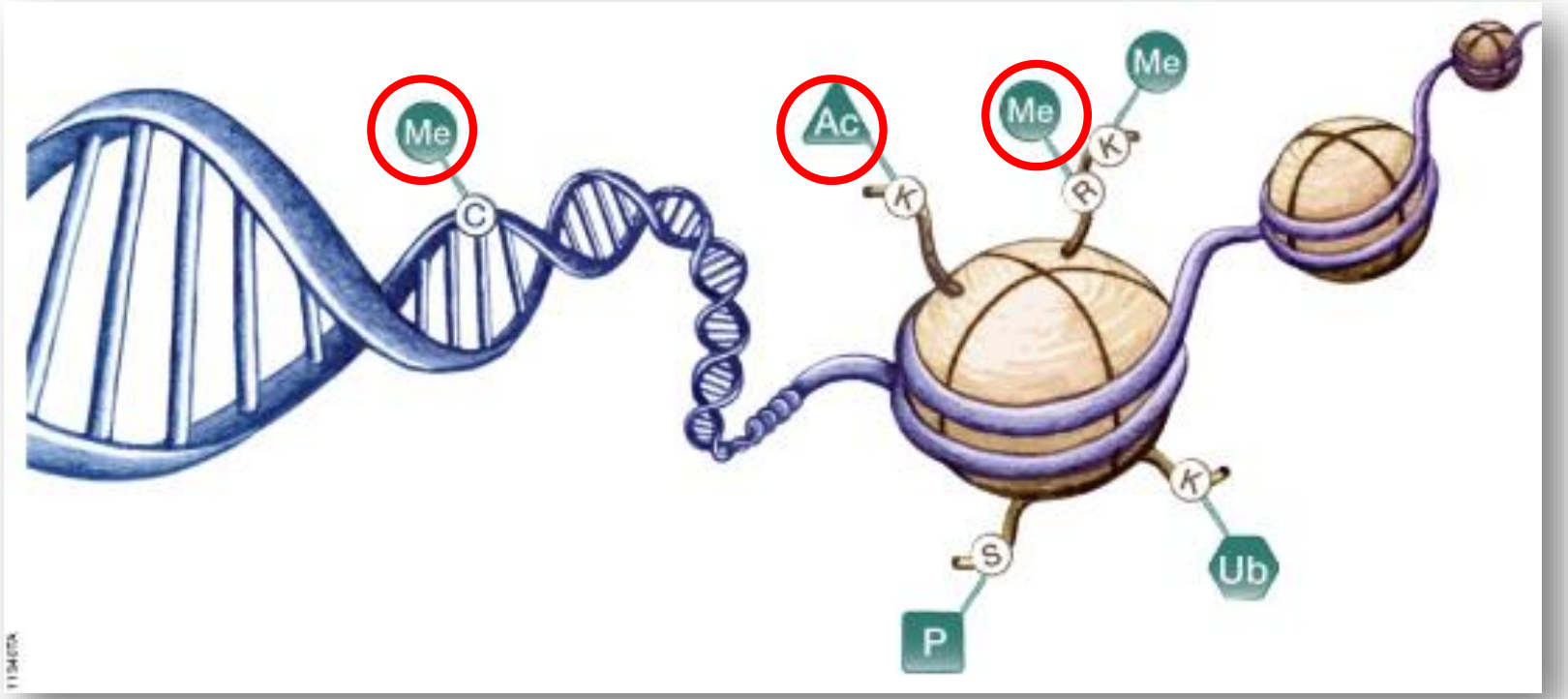
http://www.sciencemuseum.org.uk/visitmuseum/encode/twins.aspx

¿ Son idénticas?

Alteraciones epigenéticas

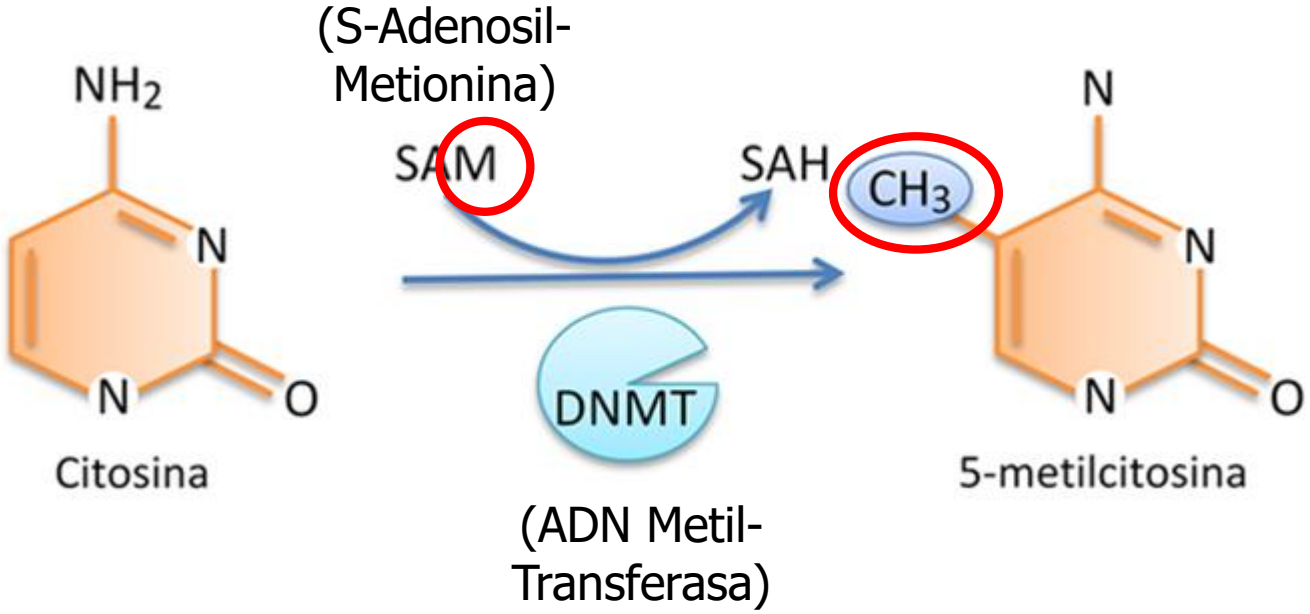
- **Definición**: Cambios en la expresión genética, heredables mitótica o meióticamente, que

  NO implican cambios en la secuencia de ADN



Epigenética: Mecanismos

1. Metilación del ADN

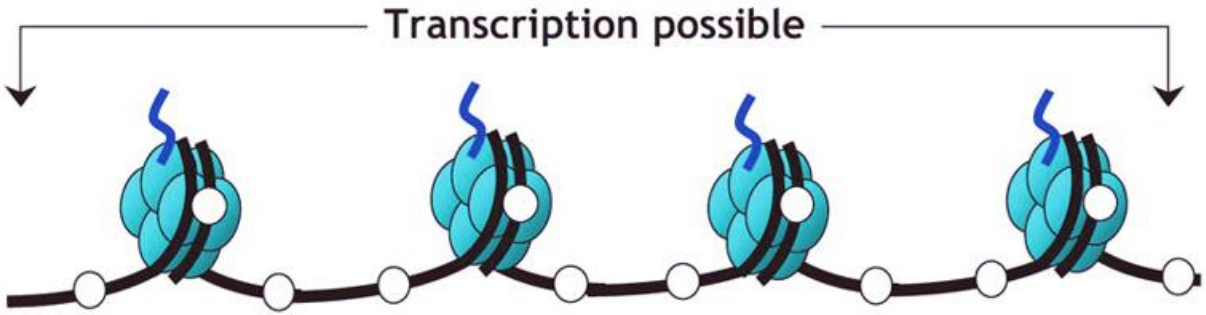


TCTGCCCGGCCAGCCGCCCCGTCCGGC
CGCCCGGCCAGCCGCCCCGTCCGGAC
CCCTGCCCGGCCAGCCGCCCCGTCCGC
TCCGGGAGGGAGGTGGGGGGGTCAGCC
GTCCGGGAGGTGAGGGGCGCCTCTGCC

- Sólo en CG
- "Islas CpG" (0.5 – 5 kb)

Efectos de la Metilación del ADN

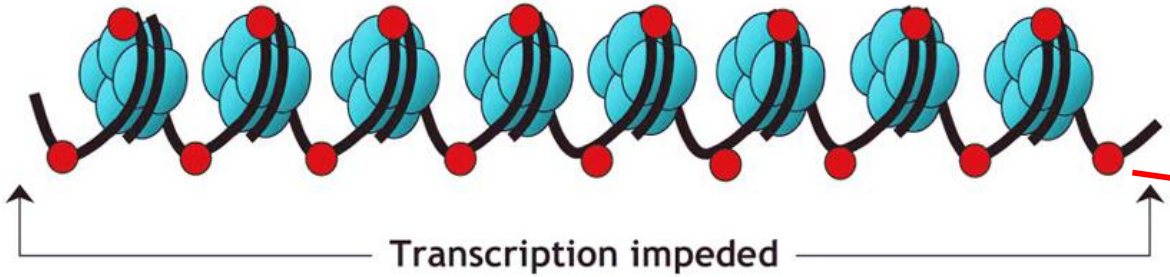
EUCROMATINA

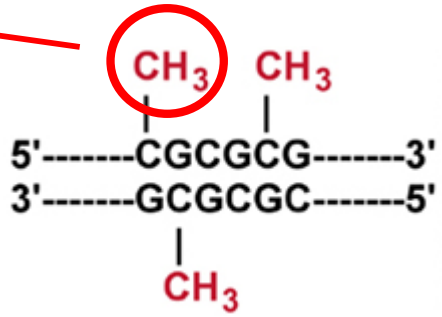


ADN **no** metilado: Configuración relajada

PROCESO REVERSIBLE!

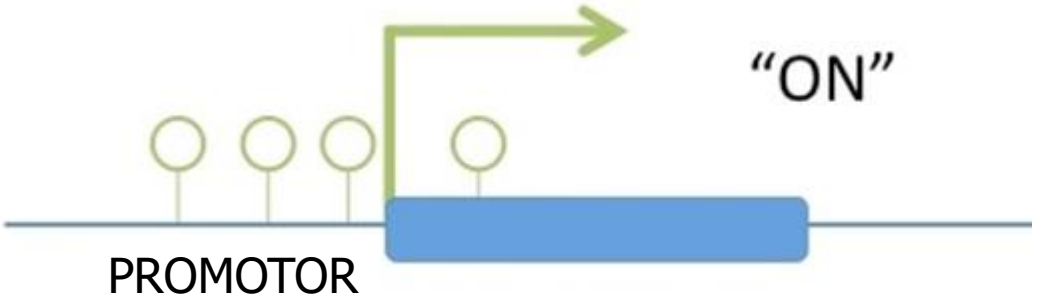
ADN metilado: Configuración compactada





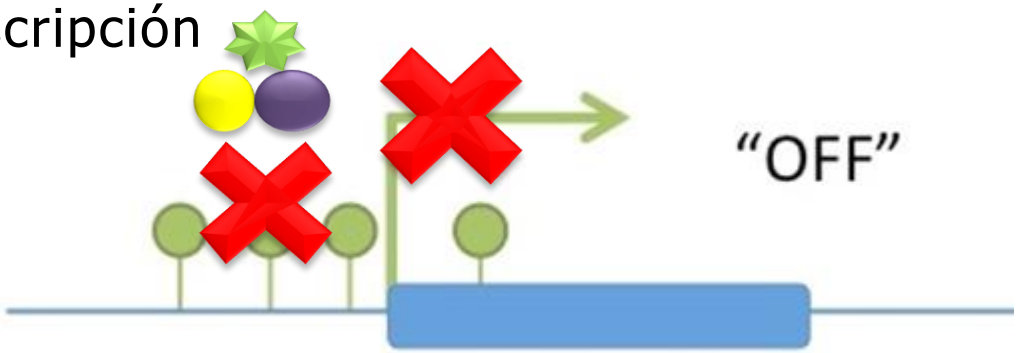
HETEROCROMATINA

Metilación y Control de la Transcripción



ADN **no** metilado:
Transcripción ACTIVA

Factores de Transcripción



ADN metilado:
Transcripción INACTIVA

La Metilación y el Ambiente

Menos metilado

Más metilado

Obeso
Predisposición a diabetes y cáncer

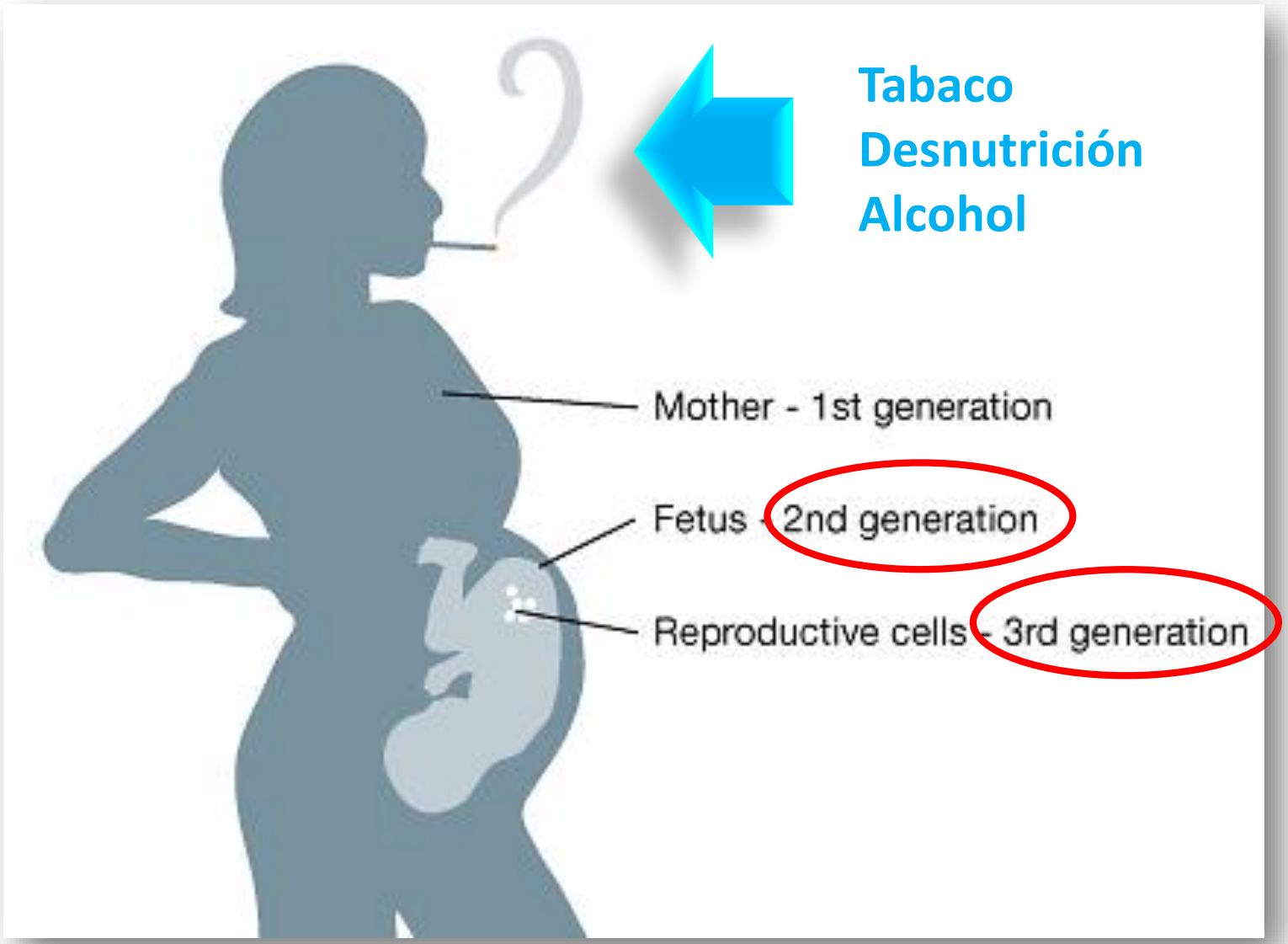
Gemelos, genoma idéntico

Delgado
Sano

- Modulación del fenotipo a través de suplementación dietética de la madre (ácido fólico, vitamina B_{12}, colina y betaína: donantes de grupos metilo)

Waterland & Jirtle, 2003. Mol Cell Biol 23: 5293–300

Epigenética y el Ambiente

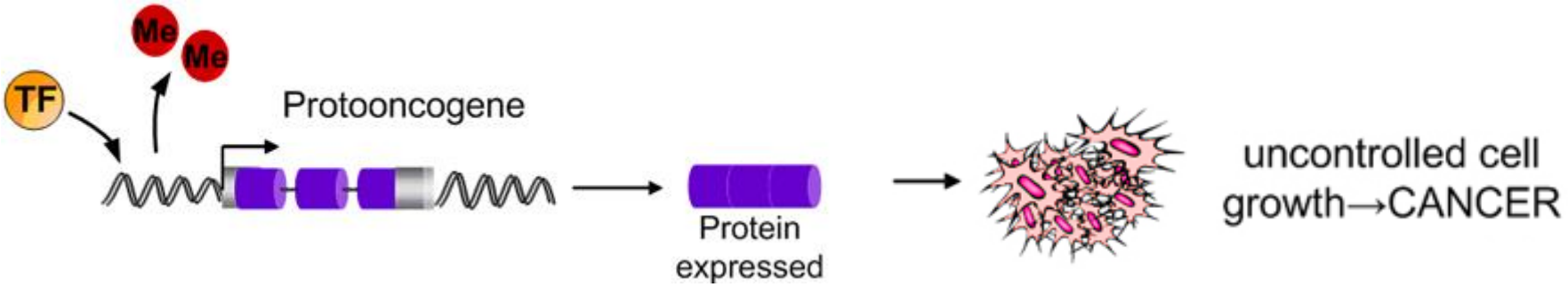


https://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/inheritance/

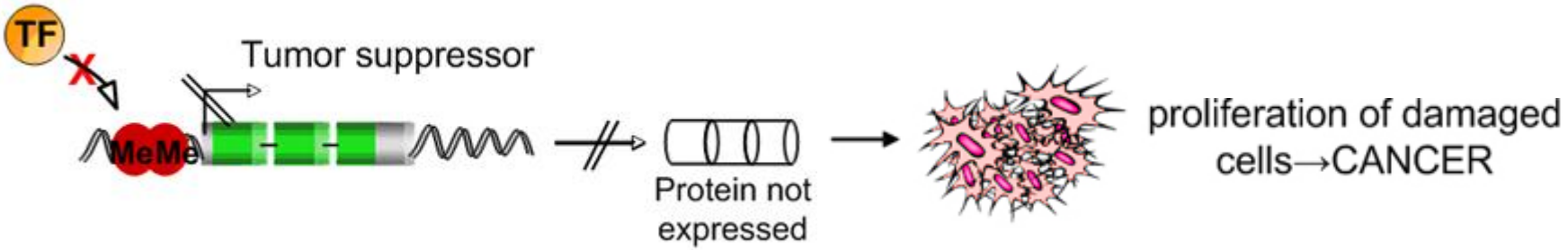

JANUARY 18, 2010
Joe Klein: The CIA's Afghan Disaster
Yemen: The New Center Of Terror
Why the Recession Hasn't Been Cool To Teens
TIME
WHY YOUR DNA ISN'T YOUR DESTINY
The new science of epigenetics reveals how the choices you make can change your genes —and those of your kids
BY JOHN CLOUD
www.time.com

Metilación de Citosinas en Tumores

- ADN de células tumorales generalmente está hipometilado



- Algunas islas CpG inapropiadamente metiladas



Metilación de Supresores de Tumores

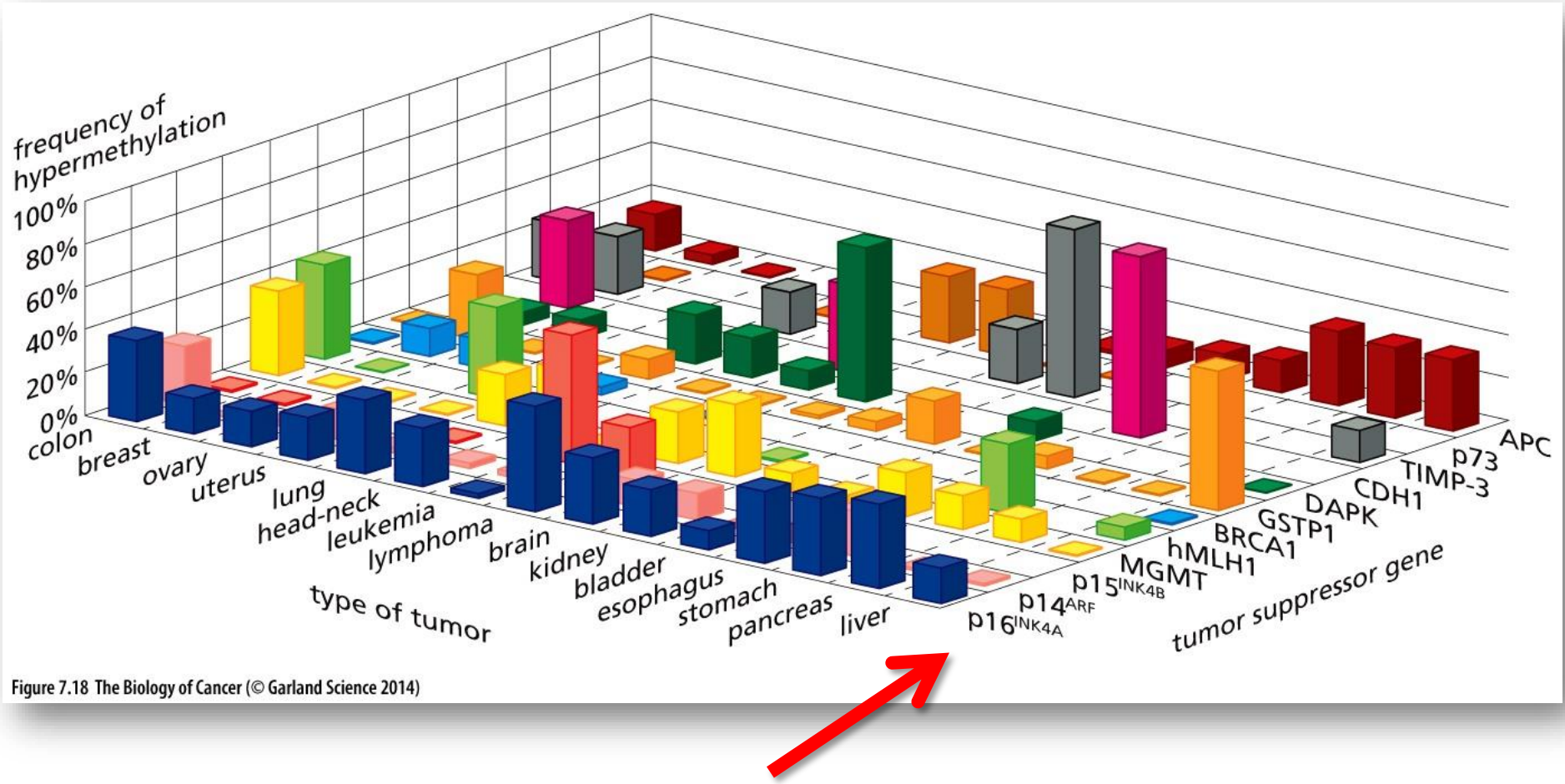
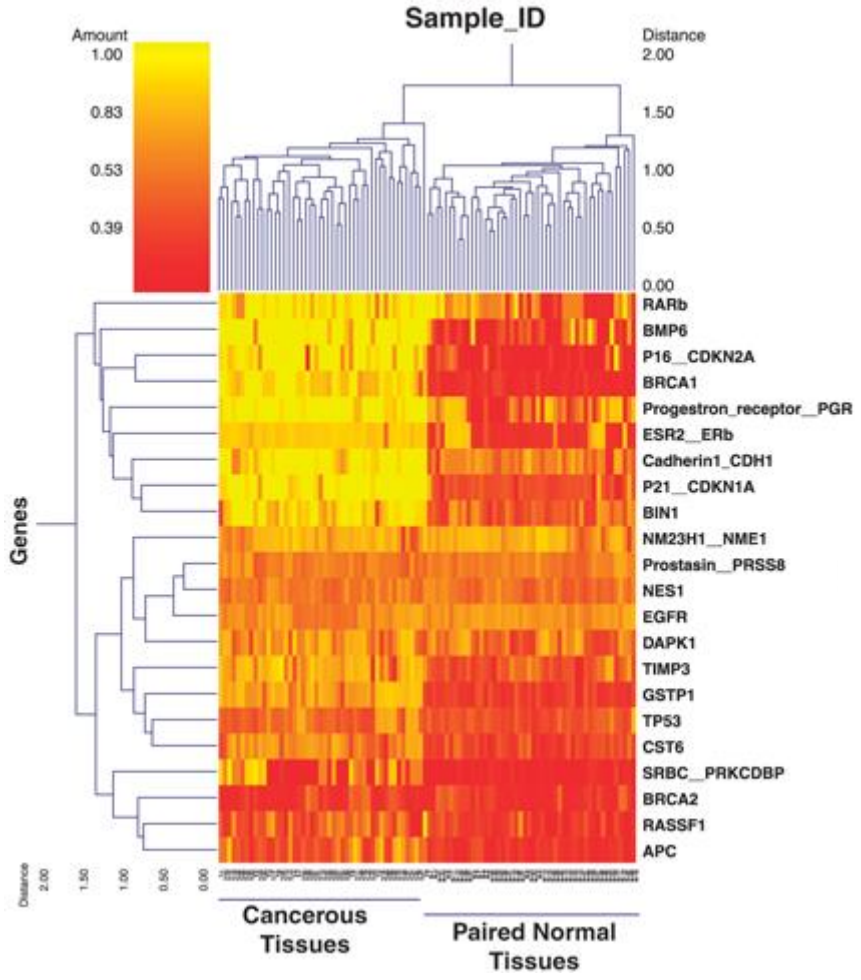
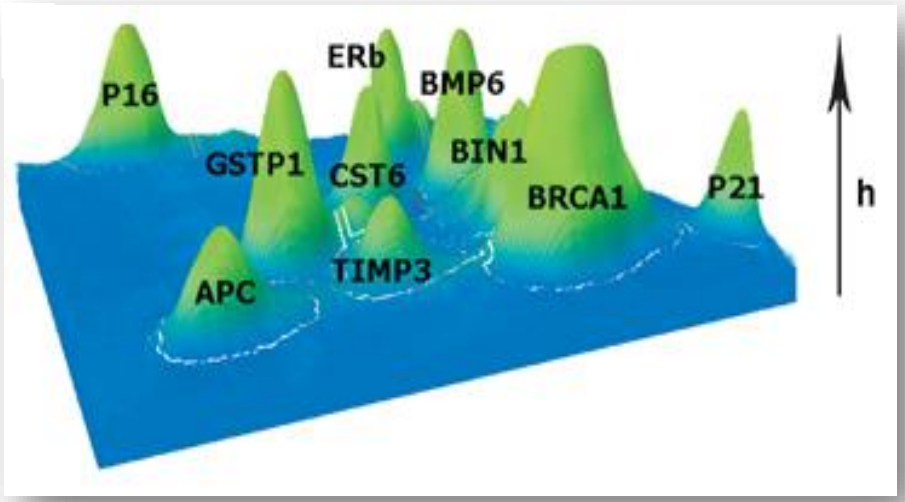


Figure 7.18 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Perfiles de Metilación

- Perfiles de metilación permiten distinguir subtipos de tumores, y tejido normal vs. tumor



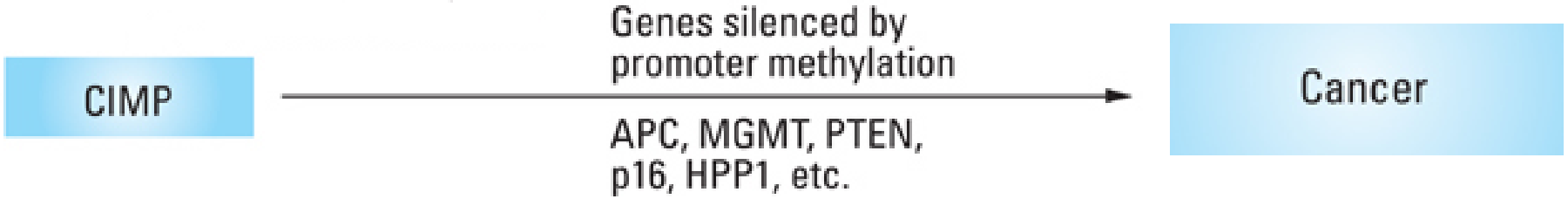


10 Genes con mayor nivel de metilación en cáncer de mama

Oncogene (2009) doi:10.1038/onc.2009.149

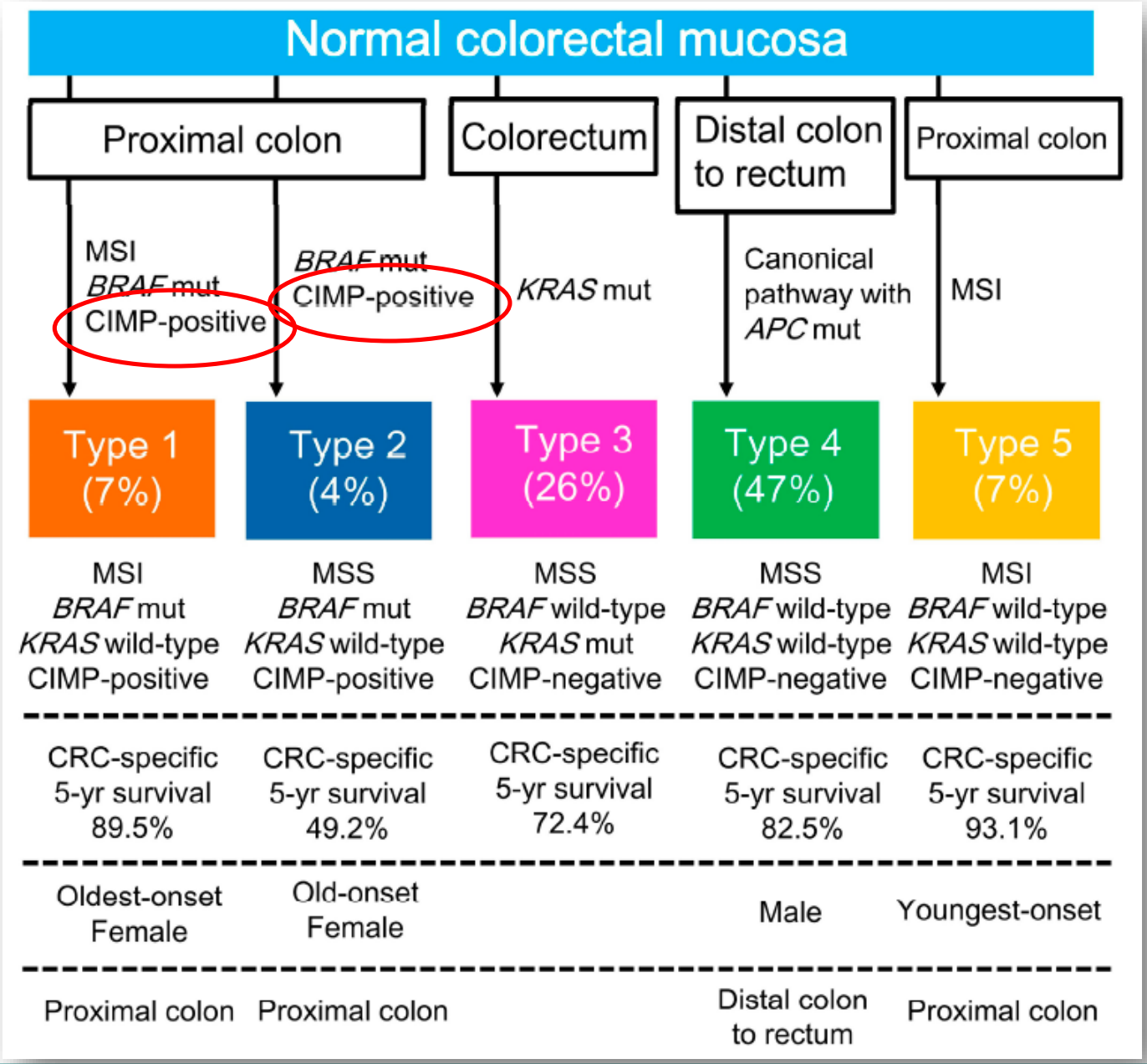
Metilación de Citosinas en Tumores

- Algunos tumores presentan un fenotipo "metilador de islas CpG" (CIMP)
- "Inestabilidad epigenética" como promotor en la iniciación tumoral
- Hipermetilación como factor pronóstico, predictivo



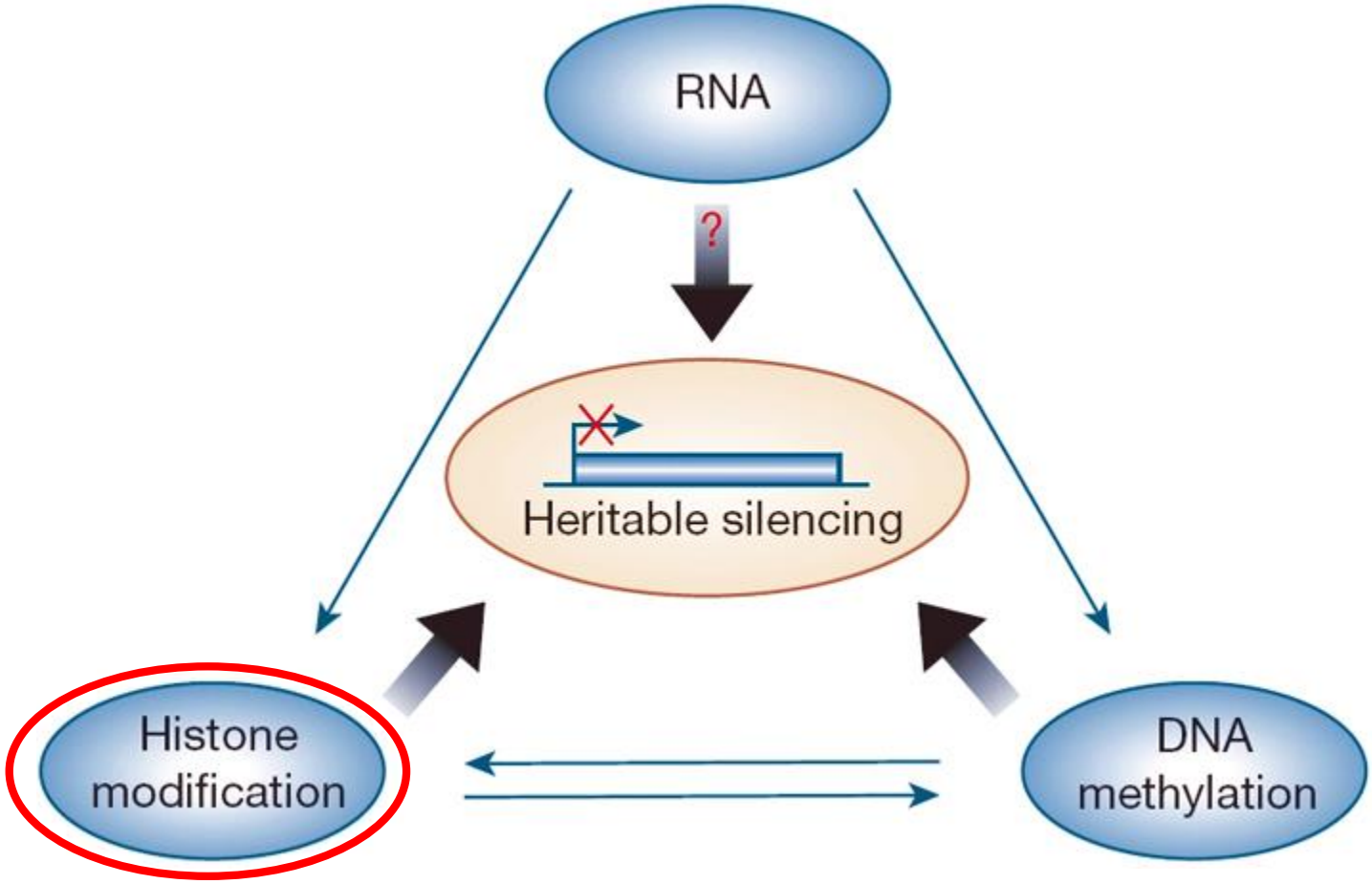
Yonsei Med J. 2009; 50(3):309-321

CIMP en Cáncer Colorrectal



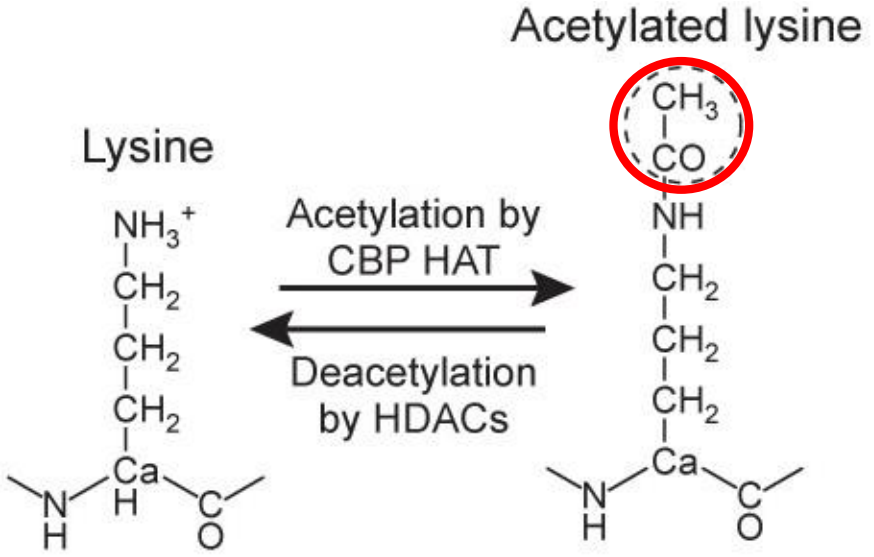
Inamura. Cancers 2018, 10, 26; doi:10.3390/cancers10010026

Mecanismos Epigenéticos

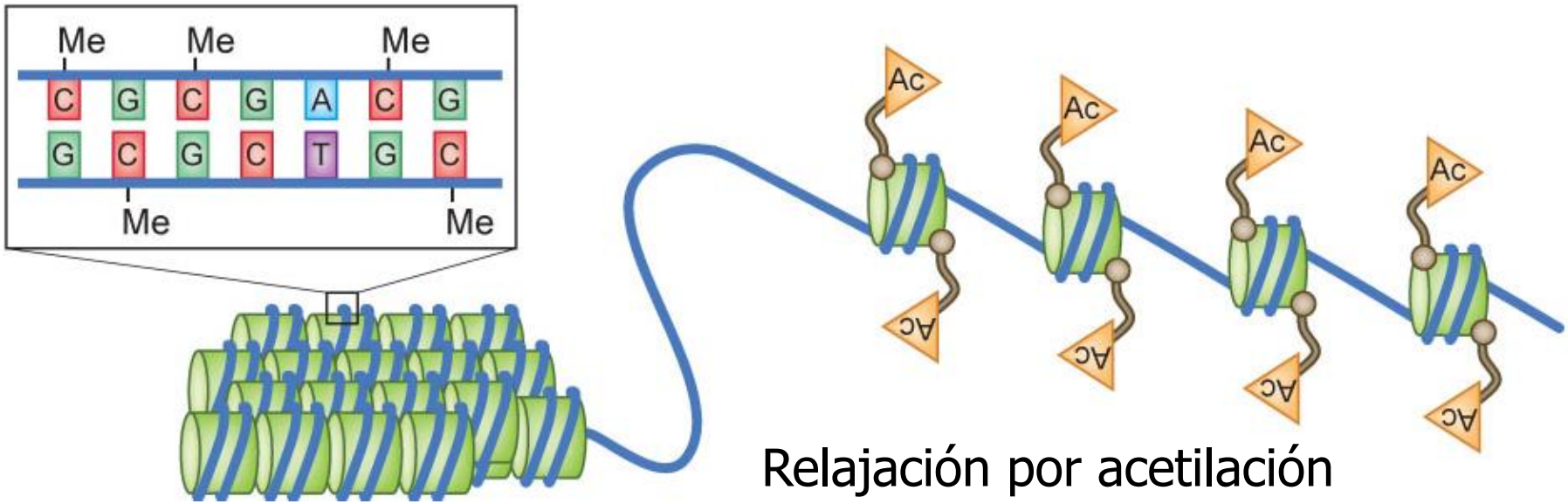


Egger, 2004. *Nature* **429,** 457

2. Acetilación de Histonas



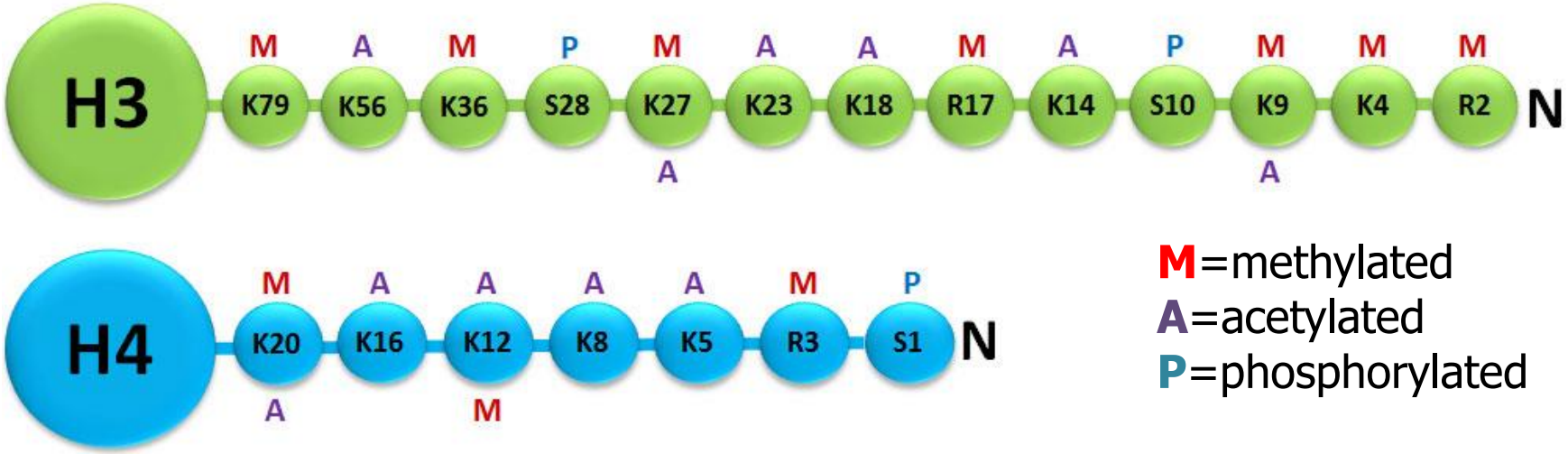
Compactación por metilación del ADN



Relajación por acetilación de histonas

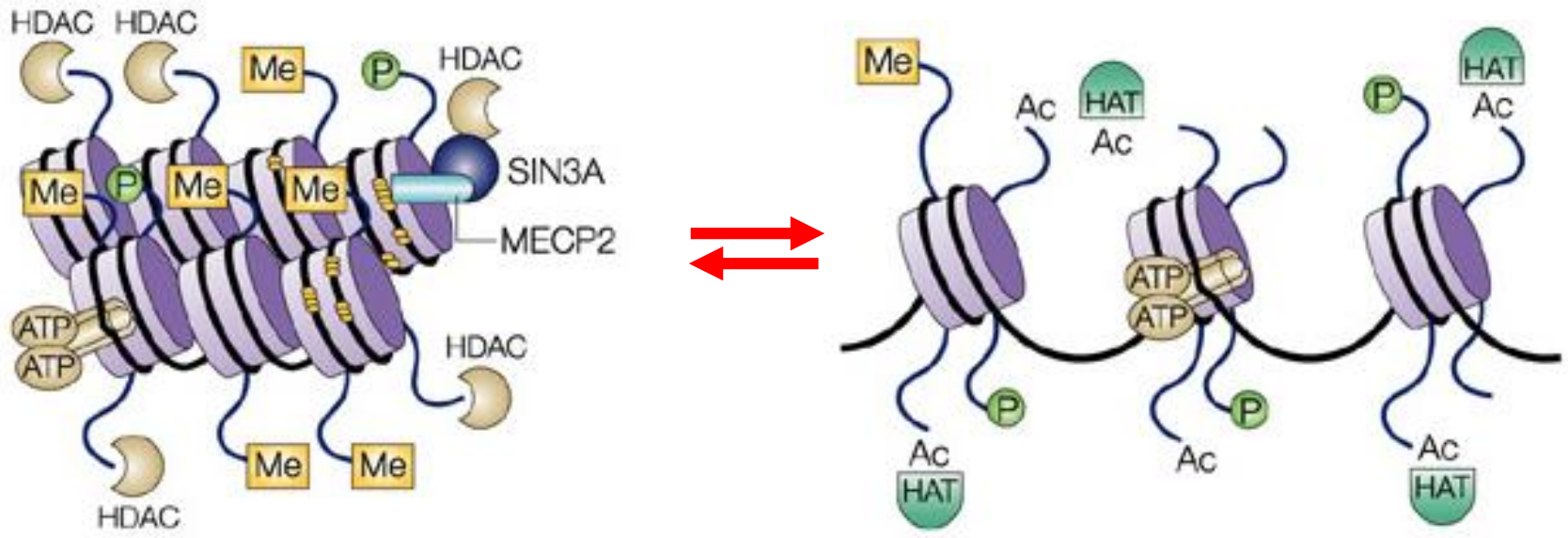
http://www.nature.com/neuro/journal/v13/n4/images/nn0410-405-F1.jpg

Y Otras Modificaciones



M=methylated
A=acetylated
P=phosphorylated

✓ **TRANSCRPCIÓN**

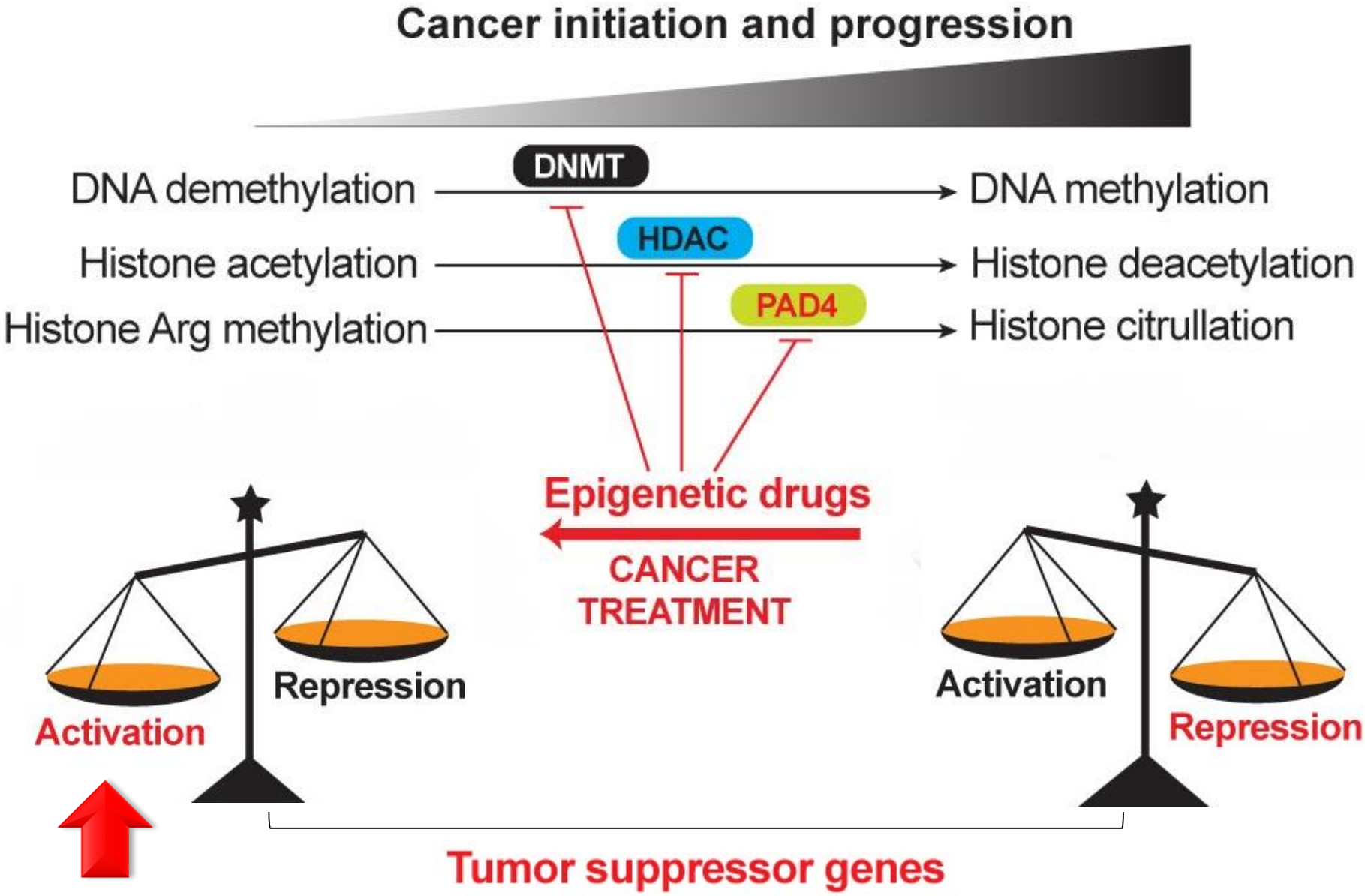


Johnstone 2002. Nature Reviews Drug Discovery 1, 287-99)

Metilación del ADN y Modificación de Histonas

https://www.youtube.com/watch?v=Tj_6DcUTRnM

Blancos Epigenéticos para Terapia



Wang Laboratory, PennState University

La Metilación como Blanco Terapéutico

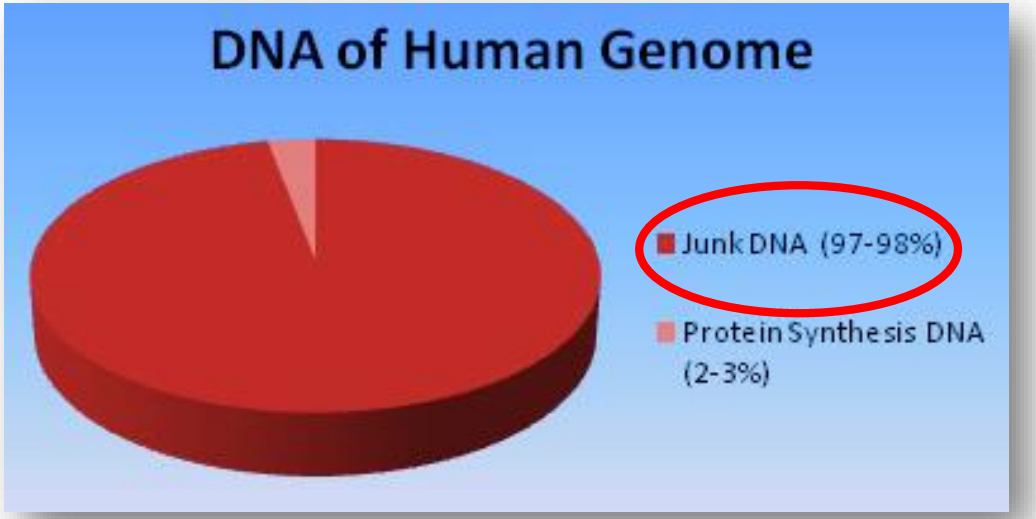
Table 2 Selected Recent Clinical Studies With Epigenetic Drugs

Drugs	Dosage	Cancer Type	Results	Reference
Azacitidine (Vidaza)	75 mg/m^2 SQ daily × 7, q4wk	AML (20% - 30% blasts, older pts)	2-y OS 50% vs 16% for supportive care	[9]
Azacitidine + lenalidomide (Revlimid)	AZA 75 mg/m^2 for days 1-5, lenalidomide 10 mg days 1-21	MDS (advanced)	CR 44%, HI 17%, PR 6%	[10]
Azacitidine + romiplostim (Nplate)	AZA 75 mg/m^2 for days 1-5, romiplostim weekly (500 µg, 750 µg, placebo)	MDS	The incidence of platelet transfusions was 46% for 500 µg of romiplostim, 36% for 750 µg of romiplostim, and 69% for placebo	[11]
Decitabine (Dacogen)	20 mg/m^2 for days 1-10	AML	CR 47%, OR 64%	[12]
Decitabine + carboplatinum	DAC 10 or 20 mg/m^2, days 1-10; carboplatinum day 8 (AUC 5)	Ovarian	CR 10%, SD 40%	[14]
Vorinostat (Zolinza)	100 to 300 mg daily; 2 wks on, 1 wk off	AML, MDS, other leukemias	CR 5%, PR 5%, overall 17%	[15]
Vorinostat vs placebo + carboplatinum + paclitaxel	400 mg daily vorinostat or placebo days 1-14; day 3, carboplatinum AUC 6, paclitaxel 200 mg/m^2	NSCLC	Confirmed RR 34% vs 16% in the chemotherapy -only arm	[16]
Vorinostat + pelvic radiation	100 mg to 400 mg daily before radiotherapy	Colorectal, stomach	Mean 26% tumor volume reduction	[19]
Romidepsin (Istodax)	14 mg/ m^2 on days 1, 8, and 15 (28-d cycle)	CTCL	OR 38%	[20]
Romidepsin	13 mg/ m^2 on days 1, 8, and 15 (28-d cycle)	AML	5/7 short duration responses only among pts with translocations involving CBF	[22]
Panobinostat	20 mg daily 3 times a week	CTCL	CR 20%, PR 40%, SD 20%	[23]
Panobinostat	30 mg daily 3 times a week—or 45 mg 3 times a week, every other week	HL	PR 38%	[24]

AML = acute myeloid leukemia; AUC = area under the curve; AZA = azacitidine; CBF = core binding factor; CR = complete remission; CTCL = cutaneous T-cell lymphoma; DAC = decitabine; HI = hematologic improvement; HL = Hodgkin lymphoma; MDS = myelodysplastic syndrome; NSCLC= non–small-cell lung cancer; OR = odds ratio; ORR = overall response;
OS = overall survival; PR = partial remission; RR = relative risk; SD = stable disease.

Oncology (2011) 25:220-6, 228.

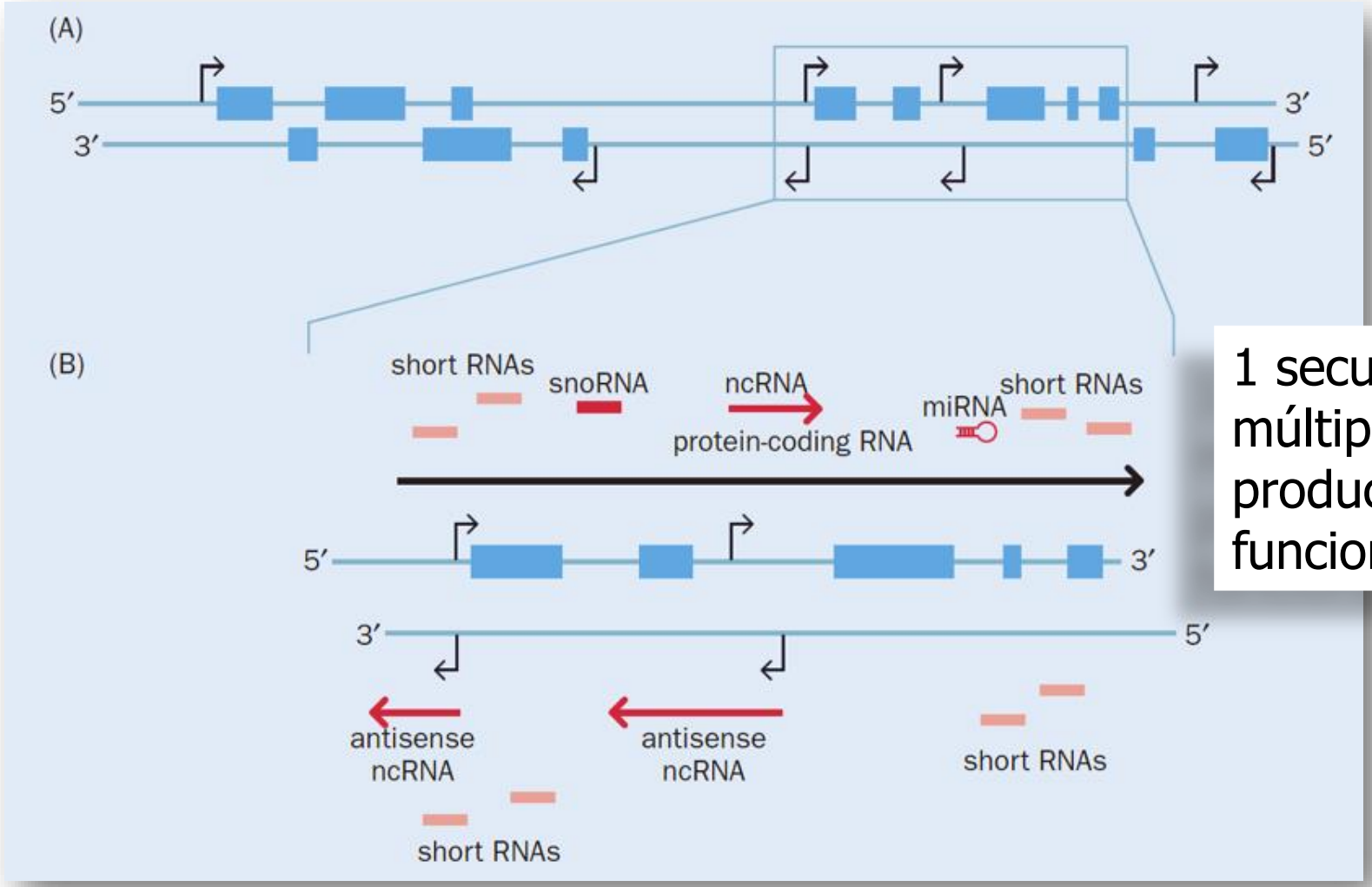
3. ARNs No-Codificantes (ncRNAs)



- ARNs que cumplen diferentes funciones regulatorias: expresión génica
- Número creciente de subtipos
- Secuencias codificantes no-proteína
- Complejidad del genoma!

Organización genómica de ncRNAs

(A) Concepto tradicional: genes, exones, intrones



1 secuencia = múltiples productos funcionales

(B) Concepto actual

Strachan & Read (2010)

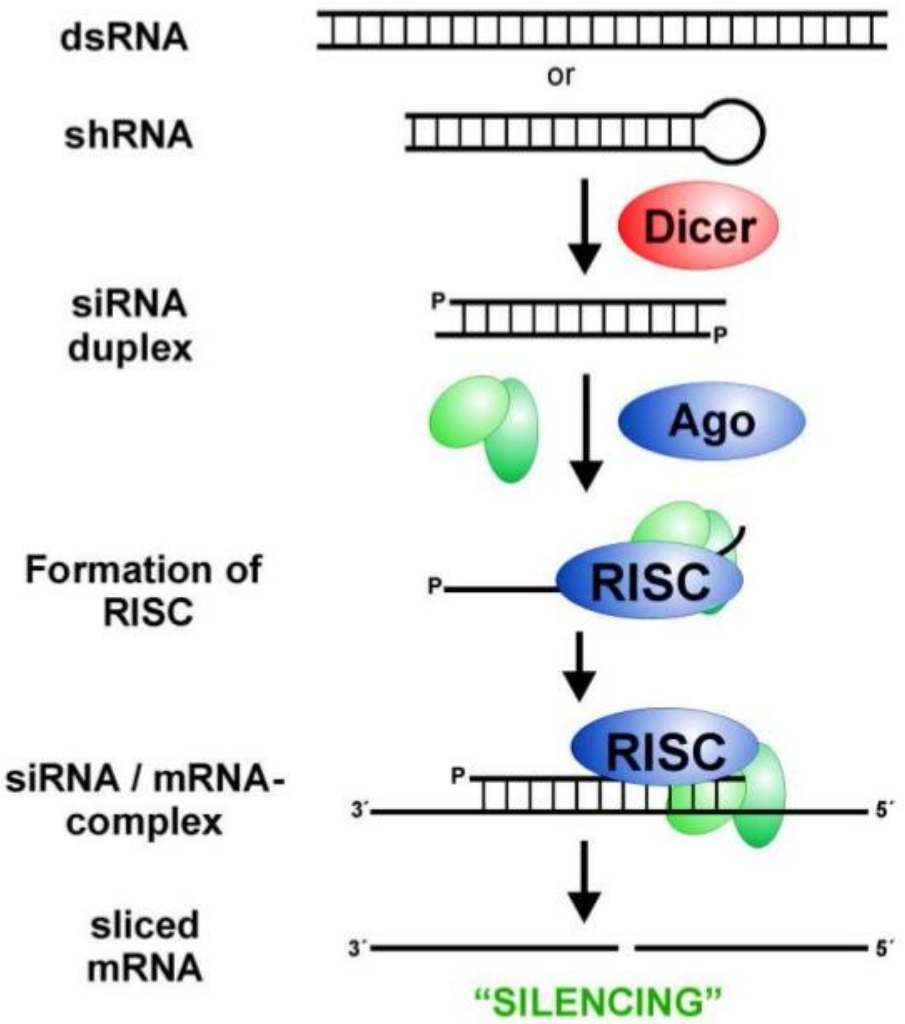
Funciones de ARNs no codificantes

- Involucrados en control de varios procesos celulares
- Complejidad en aumento, nuevas especies y definiciones

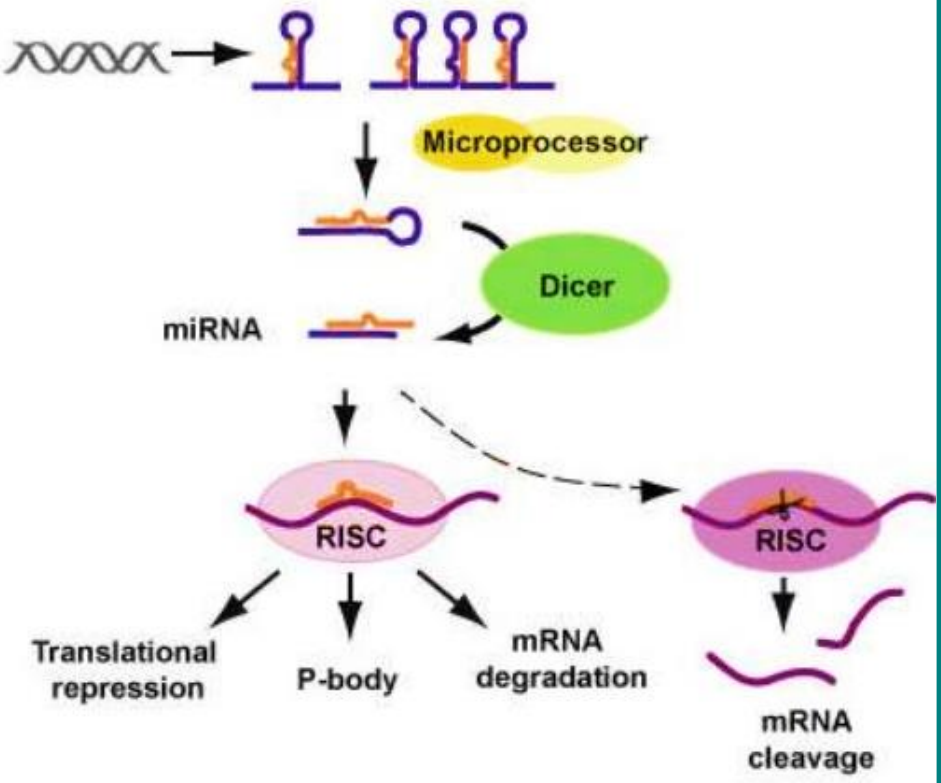
Non-coding RNA	Length (nt)	Species	Function
Ribosomal RNA (rRNA)	120~4700	All	Translation
Transfer RNA (tRNA)	70~100	All	Translation
Small nuclear RNA (snRNA)	70~350	Eukaryote	Splicing, mRNA processing
Small nucleolar RNA (snoRNA)	70~300	Eukaryote, archaea	**RNA modification, rRNA processing**
miRNA (Small ncRNA)	21~25	Eukaryote	Translational regulation
siRNA (Small ncRNA)	21~25	Eukaryote	Protection against viral infection
piRNA (Small ncRNA)	24~30	Eukaryote	Genome stabilization
Long ncRNA	several hundreds~ several hundred thousands	Eukaryote	Transcription, splicing, transport regulation

ARNs de Interferencia (ARNi)

siRNA



miRNA

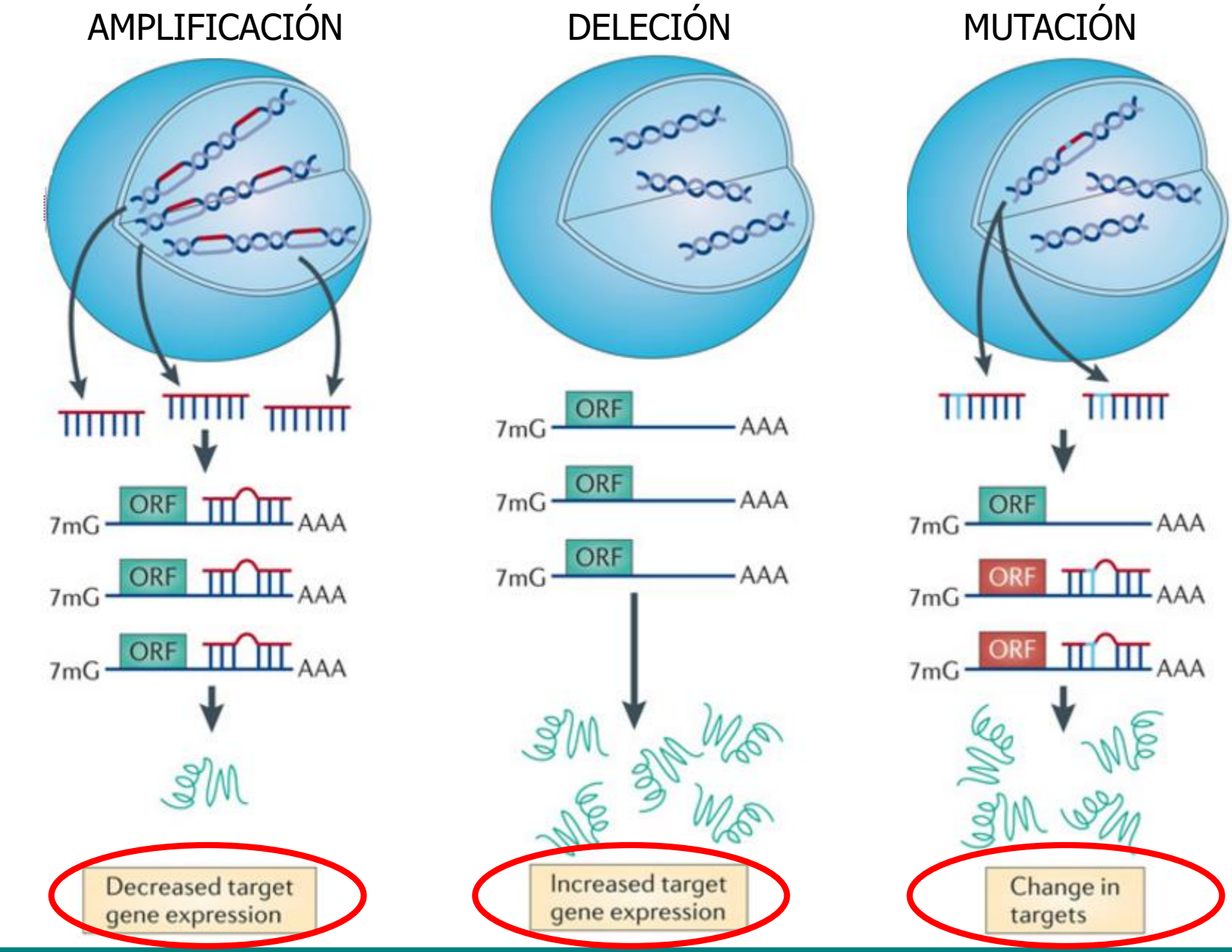


miRNA

https://www.youtube.com/watch?v=t5jroSCBBwk

https://www.youtube.com/watch?v=cK-OGB1_ELE

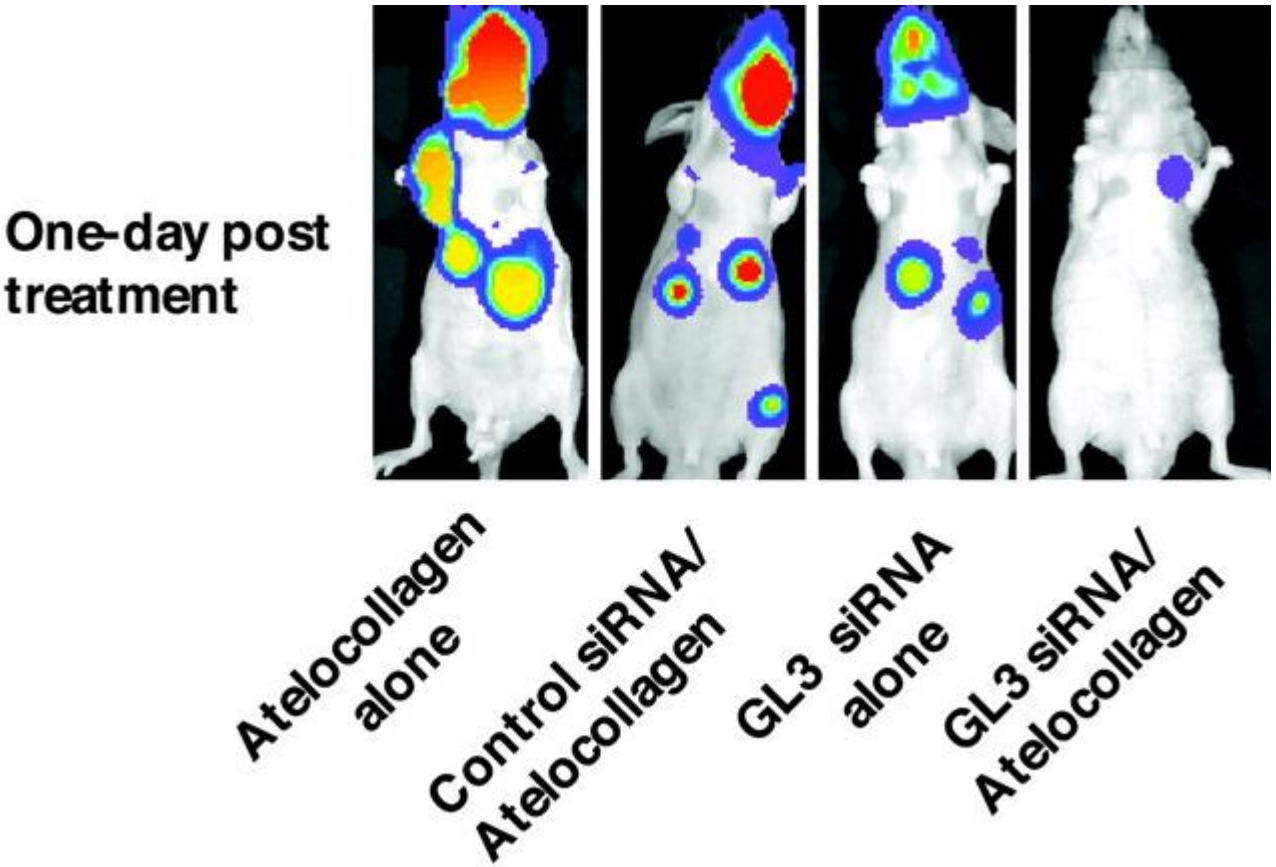
Alteraciones de miRNAs en cáncer



Nature Reviews Cancer (2011) doi:10.1038/nrc3166

RNAi: Ventaja Terapéutica

- Tamaño pequeño: vías de administración
- Blanco definido por la secuencia complementaria



Takeshita 2005. PNAS 102:12177-82

Resumen

- Los mecanismos epigenéticos logran regular la expresión génica sin alterar la secuencia del ADN
- Estos mecanismos pueden estar alterados en cáncer
- Componentes de vías repigenéticas de regulación pueden servir como marcadores o blancos terapéuticos en cáncer

Links Bibliográficos

- **Holland-Frei Cancer Medicine,** 6th edition.

  Donald W Kufe, Raphael E Pollock, PhD, Ralph R Weichselbaum, Robert C Bast, Jr, Ted S Gansler, James F Holland and Emil Frei, III (Editors). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12354/
- **The Biology of Cancer**. Robert Weinberg
- Robert Weinberg: Clases magistrales online http://videolectures.net/robert_weinberg/
- **CancerQuest** https://www.cancerquest.org/cancer-biology/cancer-genes