

Comment une cellule épithéliale humaine normale devient-elle une cellule cancéreuse : qu'est ce que le cancer ?

SOMMAIRE :

I. Signalisation et mode de fonctionnement des cellules cancéreuses

A- Généralités sur la protéine Ras

B- Mode de déplacement des cellules cancéreuses dans l'organisme

C- Voie de transduction du signal Ras

D- Mécanismes de la signalisation

1) Rôle des protéines d'échafaudage dans la signalisation

2) Signalisation intra-cellulaire : pas limitée à la membrane plasmique

3) Signalisation intra-cellulaire : complexité et redondance

4) Famille erbB et ses ligands

5) Hétérodimérisation avec d'autres récepteurs

6) Inhibiteurs de la signalisation intracellulaire

**E- Implication de l'EGFR dans la carcinogénèse
épithéliale
bronchique**

II. Gènes suppresseurs de tumeurs et épigénétique

A- Méthylation

B- Acétylation des histones par l'histone acétylase

C- Déacétylation

D- Micro-ARN

E- Un gène suppresseur de tumeurs important : la p53

III. Carcinogénèse multi-étapes du cancer du poumon

IV. Conclusion

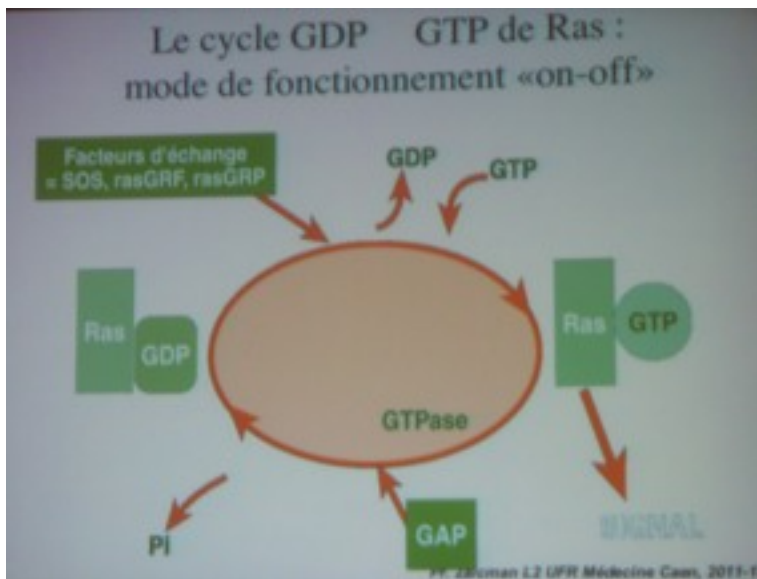
I. Signalisation et mode de fonctionnement des cellules cancéreuses

A- Généralités sur la protéine Ras

Ras est une protéine, il en existe une dizaine de types différents. Elle possède un fonctionnement en interrupteur biochimique, qui fonctionne avec 2 états :

- un inactif, lié à un guanydyldiphosphate (GDP)
- un actif, lié à un GTP

Le passage d'une forme à l'autre est cyclique, étroitement régulé par des facteurs d'échanges dont GEF (guanylyl exchange factor) : fait partir le GTP qui était en concentration très importante dans le milieu intracellulaire, et à la place, on va avoir fixation de GDP.



La protéine de la famille Ras, lorsqu'elle lie un GTP, change sa conformation spatiale, ce qui lui permet alors d'interagir avec d'autres protéines intracellulaires, et de transmettre un signal. Cette protéine est aussi capable de se désactiver toute seule en lisant le GTP et en perdant un phosphate, pour revenir à l'état GDP. Cette action spontanée de la protéine Ras est stimulée par d'autres protéines qui sont des GTPases activating proteins.

Dans un nombre très important de cancers (poumons, digestif,) il a des mutations, qui siègent sur 3 codons, et ont pour effet de bloquer la protéine Ras sous sa forme GTP, qui est du coup incapable de revenir à un état inactif, on a alors transmission d'un signal d'activation constitutif non régulé, qui peut aboutir à la transformation cellulaire, à la cancérisation.

Il y a maintenant des médicaments qui sont dirigés sur ces protéines.

Protéines Ras = superfamille de petites protéines qui ont de grandes homologies entre elles.
3 grandes familles :

- Ras : impliquée dans la transmission des signaux de prolifération, de différenciation. Regroupe essentiellement tout ce qui est activé en aval des récepteurs et qui vont entraîner la prolifération de la cellule
- Rho (= Ras homologue) : impliquée dans la régulation de la forme de la cellule, du cytosquelette (forme cellule, structure épithéliums, division et motilité cellulaire)
- Rab : régule le trafic vésiculaire d'endocytose à l'intérieur de la cellule, pour que la cellule absorbe, ou recycle les composés qui sont à sa surface.

Ont aussi un rôle important :

- Arf : régule d'autres formes de trafics vésiculaires, dont l'exocytose, capacité de la cellule de libérer des vésicules
- Ran : régule les passages entre noyau et cytoplasme. ARNm synthétisé dans noyau et traduit dans cytoplasme par ex. A l'inverse, certaines protéines sont d'abord phosphorylées puis ensuite entrent dans le noyau pour activer la transcription.

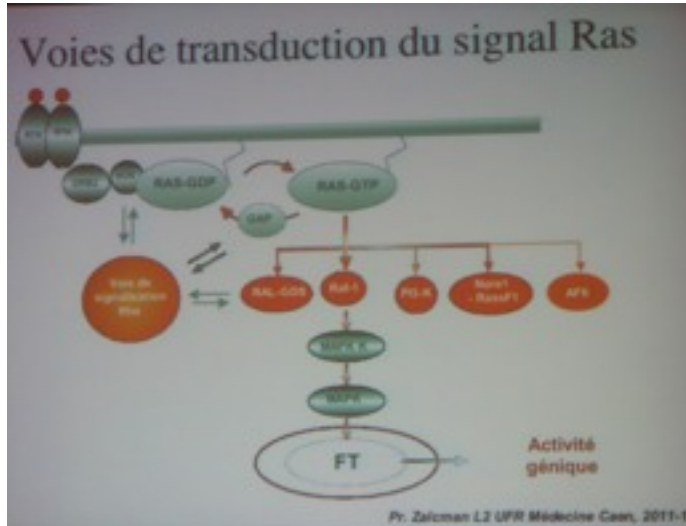
B- Mode de déplacement des cellules cancéreuses dans l'organisme

Les échanges sont régulés par des facteurs d'échanges : rien que pour la famille Rho, il y a 69 facteurs d'échange connus => régulation extrêmement complexe et fine, permettant passage forme active/inactive. Ces facteurs ont une spécificité pour toutes les protéines Rho (certains peuvent activer plusieurs Rho), et sont exprimés à différents endroits de la cellule => témoigne d'une régulation complexe et fine du système. Système de base dans la vie de la cellule, et certains médicaments sont dirigés contre ce type de système.

Une cellule qui se déplace (par ex. métastatique) dans l'organisme, a acquis des propriétés, doit se déplacer par reptation, doit émettre des prolongements cellulaires, et doit modifier son cytosquelette d'actine et de tubuline : toutes les structures mises en œuvre dans ce déplacement sont régulées par ces différentes structures que sont les facteurs d'échanges, eux même régulés par les protéines spécialisées de la famille Rho. Certains régulent aussi la mise en place des lamellipodes, d'autres l'apparition des excroissances (= filopodes), la mise en place de faisceaux d'actine de tension, qui donne sa forme à la cellule, et lui permet de se contracter sur ces faisceaux. La cellule émet des prolongements, adhère sur le support, et à partir de ces structures d'adhérence (= adhésion focale), se tire dans un mouvement de

répression = Système de déplacement des cellules cancéreuses à l'intérieur de l'organisme, qui donne les métastases, ce qui va tuer les patients.

C- Voie de transduction du signal Ras



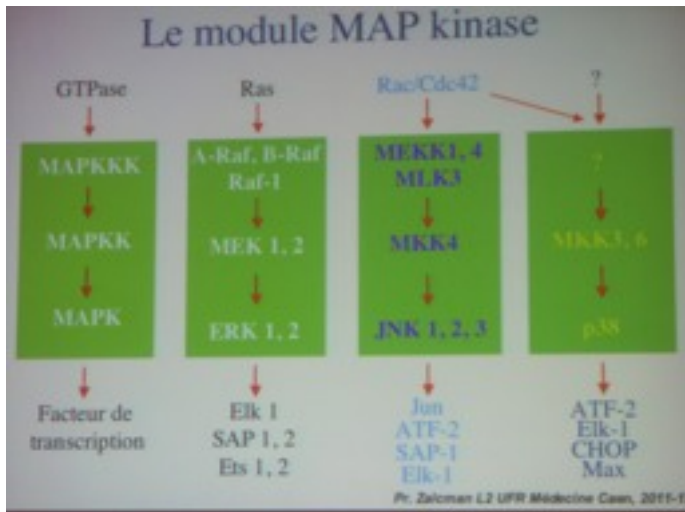
Le récepteur Tyrosine-Kinase est activé par la liaison d'un facteur de croissance => dimérisation => autophosphorylation du résidu tyrosine => reconnu par un complexe protéique qui comprend un facteur d'échange => stimulation échange Ras GDP vers Ras GTP (principe général d'action).

En aval de la protéine Ras, le Ras GTP est capable d'interagir spécifiquement avec plusieurs protéines, qui sont en fait des effecteurs à l'origine de cascades de signalisation multiples et parallèles, très complexes.

On part d'un signal, un récepteur, un commutateur biochimique qui va être activé => activation cascades => régulation transcription des gènes au niveau du noyau.

Ces cascades sont essentiellement des cascades de kinases, cad que, le recrutement d'un effecteur active une kinase, qui va être capable de phosphoryler une autre kinase, capable de phosphoryler une 3^e kinase, qui va alors acquérir la capacité de rentrer dans le noyau, et aller activer des facteurs de transcription, ce qui permet le contrôle de l'expression des gènes.

Le module MAP kinase



Comment se font ces cascades ? En fait, il existe des modules de signalisation. Des molécules chaperonnes (liées à 3 kinases par ex), du fait de leur proximité géographique, vont permettre aux protéines kinases de s’activer mutuellement les unes les autres.

Ex : cascade des MAP kinases : Ras GTPase active MAP kinase kinase kinase => active MAP kinase kinase => active une MAP kinase => active facteur de transcription.

Signal dans une cellule = succession de signaux biochimiques, qui passe par des phosphorylations.

Exemples de partenaires : kinase RAF, kinase MEK, ... existence d’environ 80 GTPases d’où plusieurs centaines de cascades de signalisation dont la spécificité provient des partenaires impliqués, et vont transmettre au noyau, a la régulation des gènes, des signaux très particuliers.

D- Mécanismes de la signalisation

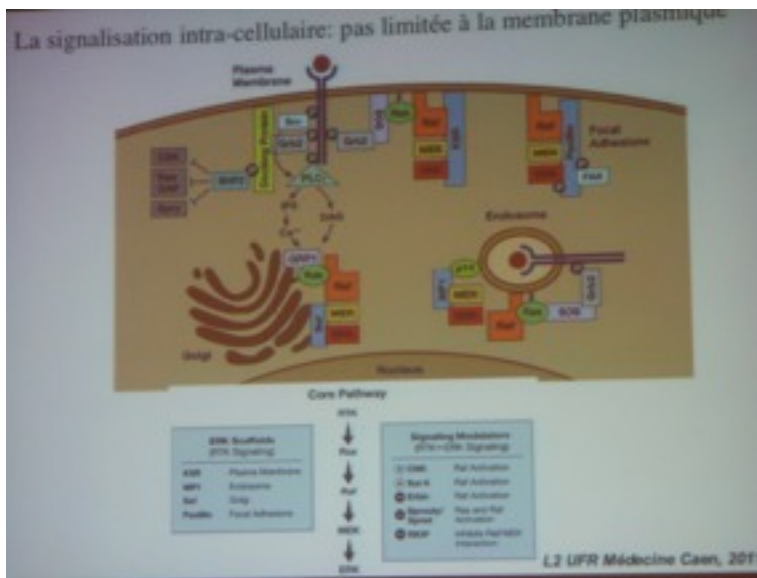
1) Rôle des protéines d’échafaudage dans la signalisation

Ces schémas complexes avec les tyrosine kinase, sont aussi vrai pour des récepteurs à 7 domaines transmembranaires, qui une fois activés déclenchent des cascades de phosphorylations, tout en restant dans une proximité géographique, du fait que les kinases soient associées à de grosses molécules chaperonnes qui permettent l’activation d’une kinase effectrice finale, qui entre dans le noyau et transmet son signal.

Néanmoins, ce phénomène est encore plus général pour les récepteurs à 7 DTM, la car signalisation peut aussi être induite par le stress (étirement tissus, chaleur ou déshydratation tissulaire, récepteurs de l'immunité,)

C'est un phénomène extrêmement général dans la cellule, multiplié par centaines, mais toujours sur le même mode de base : cascades de phosphorylations avec des kinases qui sont regroupées sur des molécules chaperonnes, et au final une kinase qui rentre dans le noyau et régule la transcription des gènes .

2)La siganlisation intra-cellulaire : pas limitée à la membrane plasmique



Cette signalisation se fait au niveau de la membrane plasmique, à l'extérieur de la cellule, mais aussi à l'intérieur de la cellule, où il y a des membranes telles des vésicules d'endocytose, appareil de Golgi, appareil du réticulum endoplasmique... Toutes ces vésicules intra-cellulaires étant issues de la membrane plasmique. Il va donc y avoir un trafic de vésicules entre le noyau et la membrane plasmique. Les vésicules qui interviennent dans ce type de signalisation sont constituées d'une biocouche phospholipidique au sein de laquelle il existe des récepteurs. Autrement dit, « le message » et la signalisation décrite pour faciliter les choses au niveau de la membrane plasmique, existent aussi à l'intérieur de la cellule. A chaque fois que l'on a des vésicules phospholipidiques avec un récepteur enchassé dedans, il y a ce type de signalisations.

Il existe des signalisations spécifiques de chaque vésicules (Appareil de Golgi, Réticulum endoplasmique...), et pas simplement à la membrane plasmique.

En aval de tous ces récepteurs, il y a 3 grands types de messages qui sont transmis :

-Premier message = un signal de survie cad une lutte contre l'apoptose. Ce signal quelque soit le récepteur initial, passant par Ras, active une kinase qui s'appelle la PI3K et une autre

kinase qui s'appelle la kinase AKT. Quand on aura terminé nos études de médecine dans quelques années, il y aura des médicaments disponibles en pharmacie, qui vont cibler ces kinases, les inhiber, et si on empêche le signal de survie, la cellule meurt.

Deuxième grand type de cascade, c'est la cascade des Map kinases Ram, Mek :

-Deuxième message = un signal de division cellulaire de prolifération

La encore il y aura des inhibiteurs, des médicaments qui inhibent ces kinases plus ou moins spécifiquement

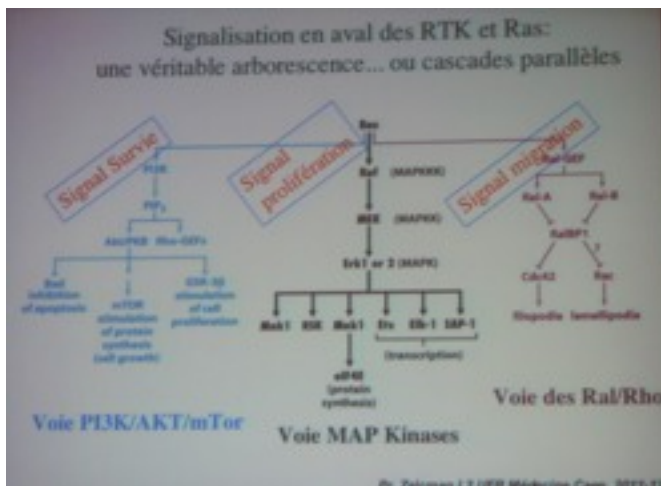
-Troisième message = un signal de migration

Non seulement, je prolifère, mais je suis capable de quitter mon tissu originel et d'aller métastaser. Passe par les protéines rho notamment. Là les inhibiteurs sont plus difficiles à concevoir.

Pour simplifier :

3 grands signaux passent par ces cascades

Les signaux de survie, de migration et de prolifération.



Dans le détail

Dans la voie de la survie cellulaire, qui est complexe, un acteur principal, la Phosphoinositide 3-Kinase est enchâssée dans la membrane phospholipidique. Là encore on active un récepteur, Ras, et il y a une interaction avec cette kinase qui se trouve activée par un changement de la conformation. L'action de cette kinase est de phosphoryler un des phosphoinositide biphosphate de la membrane pour en faire un phosphoinositide triphosphate, qui va activer une autre succession de kinases dont AKT et ainsi de suite, des phosphorylations dont le rôle principal est d'inhiber l'apoptose. On agit sur un effecteur qui se trouve dans la mitochondrie. Cette kinase régule aussi le métabolisme cellulaire, notamment le métabolisme glucidique, favorise la transition des protéines et donc cette voie de signalisation favorise la division cellulaire. Il y a des rétro-contrôles négatifs, des phosphatases qui vont « happer des phosphoryles ». Ces cibles font l'objet de recherches de molécules thérapeutiques qui vont interagir avec elles pour empêcher leur action.



3) Signalisation intra-cellulaire : complexité et redondance

On fait une analogie avec un circuit intégré d'ordinateur . On retrouve plusieurs niveaux de complexité :

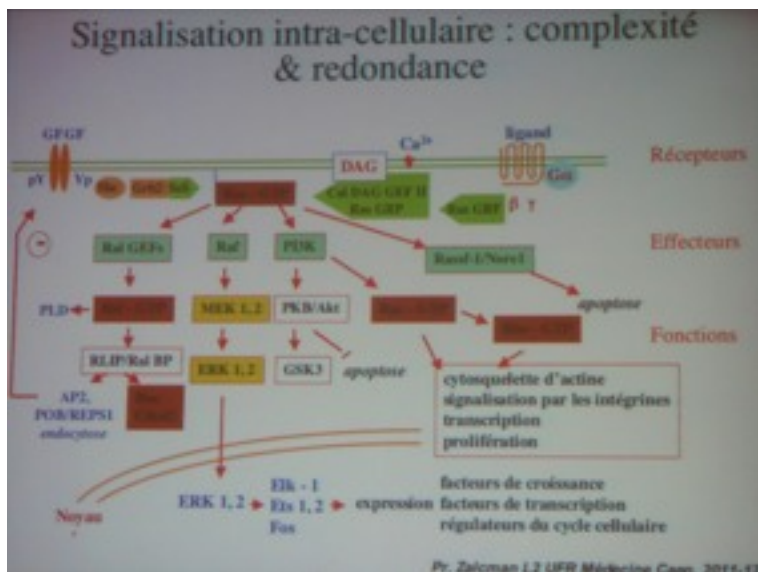
Au niveau des récepteurs, il peut y avoir un récepteur Tyrosine-kinase, un récepteur à 7 domaines transmembranaire, une signalisation autre comme celle du calcium , toutes sont intégrées par des protéines de la familles Ras.

En aval de Ras, une voie canonique qui est la plus célèbre, et la plus importante, est la cascade des Map kinases, qui aboutit à la prolifération.

Une autre voie, celle de la cascade de la P13kinase/AKT, aboutit à l'inhibition de l'apoptose, et permet ainsi la survie cellulaire.

La voie des Rho régule quant à elle le cytosquelette et la migration.

Une autre voie peut , au lieu d'inhiber l'apoptose, empêcher l'apoptose. L'activation de ce signal peut alternativement inhiber l'apoptose ou au contraire la stimuler. Cela intervient à différents type de moments de la vie de la cellule et en fonction de différents signaux.



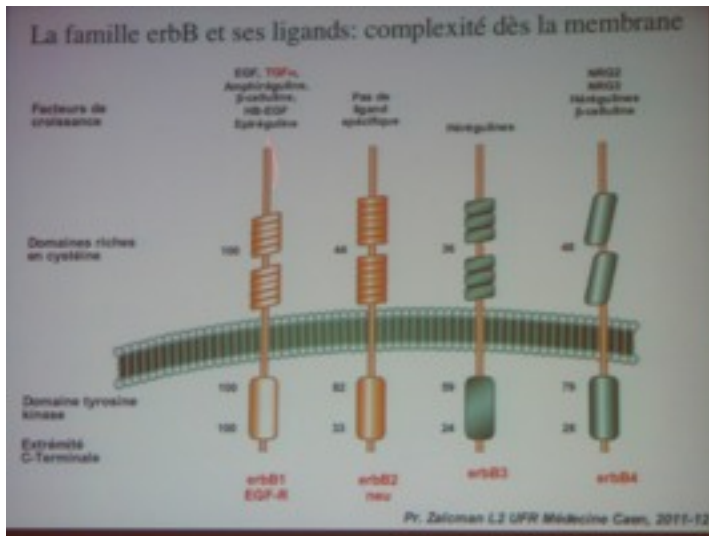
Un signal pour être efficace doit s’interrompre. Une façon de l’interrompre, c’est le passage du GTP vers le GDP. Une autre façon de l’interrompre, c’est de stimuler l’endocytose du récepteur, cad qu’il va être absorbé par une vésicule d’endocytose et détruit, ce qui permet d’arrêter le signal. Cela est contrôlé par une petite protéine de la famille Ras.

Il existe des cascades parallèles, des cascades qui peuvent être antagonistes, stimulation apoptose, inhibition apoptose et des cascades qui régulent le feedback négatif du signal.

4) La famille erbB et ses ligands

Complexité au niveau des récepteurs :

Il y a plusieurs types de récepteurs. Au sein des récepteurs Tyrosine-kinase, (le plus célèbre) c’est le récepteur à l’EGF (Epidermal Growth Factor), le premier qui a été caractérisé à la fin des années 60 (Prix Nobel à son découvreur). L’EGF joue sur un récepteur à EGF encore appelé R2P1. Il y en existe 4 très proches les uns des autres qui définissent la famille Erb. Ces récepteurs ont des ligands spécifiques. Certains ligands n’activent qu’un type de récepteurs, et il y a un récepteur pour lequel on n’a pas de ligand spécifique.



Comment ça marche :

On met le ligand de l'EGF, et on active un récepteur qui peut être, soit un homo dimère (deux fois R2P1), soit un hétéro dimère, c'est à dire qu'au sein de cette famille ces récepteurs peuvent s'hétérodimériser.

Il faut décider quelle cascades on va activer. En pratique si les récepteurs sont capables d'activer 6 voies de signalisation en aval, ils ne vont pas le faire en même temps, il y a une régulation qui passe par les partenaires qu'ils utilisent dans la dimérisation induite par le récepteur. Ainsi on a toutes les possibilités d'hétérodimérisation de chaque hétérodimère à la surface de la cellule, qui peut activer spécifiquement une voie plutôt qu'une autre, ce qui peut changer en fonction du type de ligand, de la stimulation ou du moment dans la vie de la cellule.

C'est une façon de réguler le type de signalisation qui est mis en jeu dans la cellule.

Le message là dedans est certes complexe, mais le niveau de complexité reflète la finesse de la régulation.

Pourquoi cette hétérodimérisation, comment ça marche ? On revient à la séquence des protéines et donc des gènes. Ces récepteurs qui sont de la même famille, n'ont pas les mêmes tyrosines, du moins, n'ont pas les mêmes tyrosines situées autour avec des séquences adjacentes identiques et si on regarde le gène père, il n'a que deux tyrosines qui sont reconnues par la PI3Kinase, qui régule la survie cellulaire.

A l'inverse le récepteur ErbB3 a 6 tyrosines qui peuvent être reconnues par cette P3kinase. En aval du dimère, la composante qui induit la survie cellulaire, ce n'est pas le GFR, mais son partenaire de dimérisation, c'est ErbB3. La voie de signalisation qui va être activée dépend de la séquence du récepteur qui est impliqué dans la signalisation initiale. En fait à la surface d'une cellule, c'est la quantité de ce dimère qui va faire que telle ou telle voie prédomine dans la cellule.

La complexité, la régulation des signalisations, elle se fait au niveau des récepteurs, mais aussi au niveau de Ras, puisque Ras lui même peut interagir avec la voie des Map kinases, soit directement interagir avec la P3 kinase, mais cela peut activer les deux cascades de façon parallèle.

5) Hétérodimerisation avec d'autres RTK : c-met

Un niveau de complexité supplémentaire, lorsque l'on a hétérodimerisation au sein d'une même sous famille, on s'est aperçu que cela pouvait aussi s'hétérodimeriser avec d'autres récepteurs plus éloignés d'autres familles.

C'est ce qui se passe pour le récepteur à l'EGF. Quand il est activé il se dimérise avec un partenaire ErbB3, qui active la voie de la survie cellulaire. On a maintenant des médicaments qui vont inhiber ce récepteur et donc, la voie de la survie cellulaire, n'est plus activée, la cellule meurt. Au bout de quelques mois à trois de traitement, on voit apparaître de nouvelles cellules métastatiques avec un mécanisme de résistance. L'EGFR, au lieu de se dimériser avec ErbB3 va se dimériser avec un autre récepteur tyrosine-kinase qui s'appelle c-met, qui n'appartient pas du tout à sa famille. Naturellement à l'état de base dans la cellule, ces hétérodimères sont très rares, mais quand on l'empêche d'interagir avec son partenaire privilégié, il interagit avec un autre partenaire. Il se crée alors une résistance aux médicaments qui ciblent l'EGFR. Si on veut surpasser cette résistance, on va utiliser un inhibiteur de ce deuxième récepteur.

On commence à comprendre comment, au niveau moléculaire, comment les protéines interagissent les une avec les autres, on va pouvoir concevoir des médicaments spécifiques qui vont agir soit ici ou soit là en cas de résistance.

6) Les inhibiteurs de la signalisation intra-cellulaire

Jusqu'à présent on traitait les patients avec des chimiothérapies, des molécules qui tuent les cellules sans trop qu'on sache comment, maintenant on est en train de concevoir des nouveaux médicaments, en comprenant les molécules de signalisation des cellules.

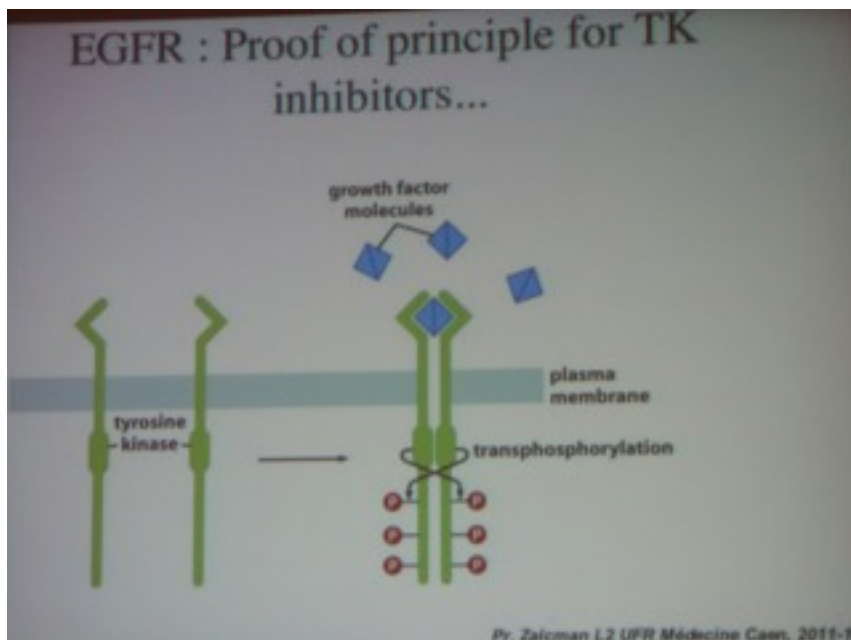
On s'est aperçu que pour faire du cancer, les cellules étaient obligées d'activer ces modules de signalisation, c'est pour cela qu'il y a des mutations de Ras, de Raf, de la Mek de EGFR ou des amplifications c'est à dire des multiples copies du gène qui aboutissent à une augmentation de la concentration, notamment du récepteur. Cela est vrai pour quasiment tous les cancers humains, quand on met en évidence l'existence de ces mutations dans certains cancers, en utilisant un inhibiteur spécifique de la protéine, on sera particulièrement efficace sur ce type de cancer.

Actuellement on a des médicaments qui ciblent les mutations de Raf et de Mek qui sont déjà dans une maladie qui était orpheline, le cancer de la peau, le mélanome malin incurable dans un pourcentage élevé de cas, avec des traitements qui ne marchaient pas. En utilisant des inhibiteurs de ces kinases, on a obtenu des rémissions complètes, des survies extrêmement prolongées. Notre génération traitera les cancers de façon très différente de celle actuelle, avec des molécules ciblées conçues sur la connaissance de la biologie cellulaire. C'est ce qu'on appelle les inhibiteurs de la signalisation cellulaire. Si la signalisation se résume à une cascade de phosphorylations de modifications biochimiques aboutissant au noyau, on va concevoir des médicaments qui vont directement inhiber les sites kinases des

différentes protéines. Les enzymes qui gouvernent cela au point de départ de la membrane sont des tyrosine kinases pour la majorité. Elles font partie d'une grande famille regroupant plusieurs centaines de kinases qui sont soit, récepteur au niveau de la membrane, soit non récepteur à l'intérieur. Il peut y avoir d'autres types de kinases qu'on appelle des serine thréonine kinases qui vont phosphoryler des sérines et des thréonines.

Toutes ces molécules dérivent d'un seul ancêtre, c'est ce qu'on appelle un arbre phylogénétique. Au fil de l'évolution, elles ont divergé dans leur séquence, mais elles ont gardé des similarités, notamment au niveau des sites catalytiques enzymatiques.

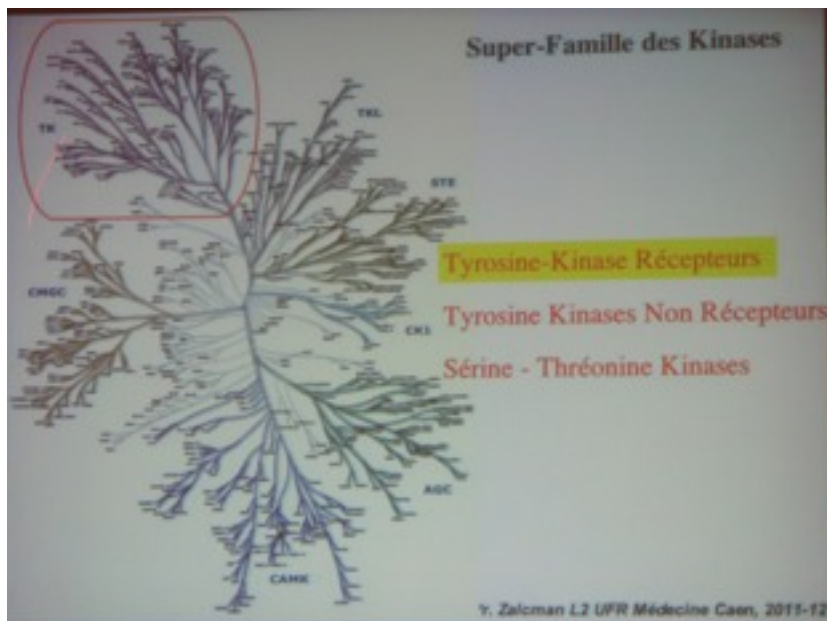
Les tyrosine kinases qui sont la cible des médicaments dans le cancer du poumon, sont principalement des récepteurs tyrosine kinase.



Voilà notre récepteur, son facteur de croissance, son activation avec son autophosphorylation (réaction chimique extrêmement simple, on prend une molécule d'ATP, on prend son phosphate, on dégage de l'ADP et le phosphate on le met sur une autre protéine).

C'est cela une kinase. Ce type de site enzymatique, on sait maintenant l'inhiber avec des molécules, qui structurellement ont la même forme que l'ATP et vont se fixer à la place de l'ATP dans le site catalytique, empêchant ainsi sa fixation.

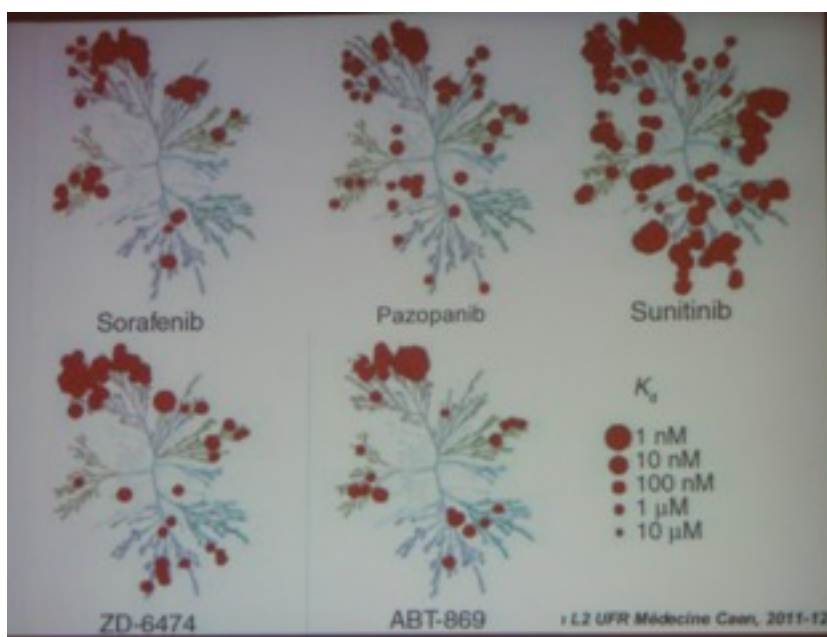
C'est une molécule beaucoup plus simple à synthétiser que les chimiothérapies classiques. On sait modéliser en 3 D, à partir d'une séquence de protéines, la conformation spatiale du site enzymatique du récepteur. Grâce à l'informatique on va concevoir une molécule qui aura la même forme que l'ATP, qui va se glisser dans ce site du récepteur de façon très affine et empêcher l'ATP de venir se fixer. Si on empêche le donneur de phosphate de venir se fixer, on empêche le signal depuis son origine.



Arbre phylogénétique des kinases. On a différentes molécules qui sont toutes rentrées dans l'arsenal thérapeutique. La proximité des séquences fait que la spécificité de ces molécules est relative. Ces molécules sont actives sur plusieurs kinases.

Une autre molécule utilisée dans les leucémies, est active sur sa cible principale, mais aussi sur d'autres kinases

Il est très difficile d'avoir des médicaments spécifiques.



La taille du rond rouge traduit l'affinité.

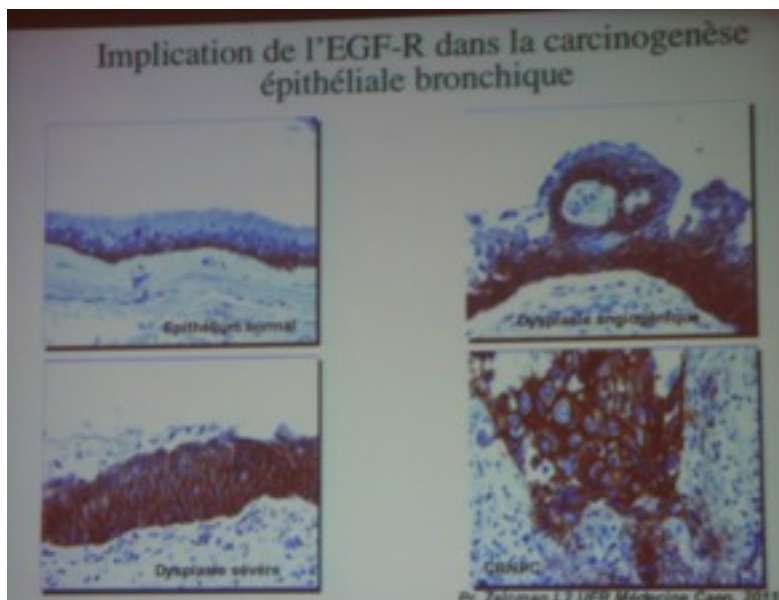
On voit qu'il y a des affinités différentes, on peut varier les concentrations.

En général la spécificité des médicaments est relative car les séquences des tyrosine kinases sont très proches les unes des autres.

E- Implication de l'EGFR dans la carcinogénèse épithéliale bronchique

L'exemple historique qui montre que cela marche, c'est le récepteur à EGF, particulièrement impliqué dans la vie normale de l'épithélium des bronches. Il est exprimé à l'état basal dans les cellules qui se multiplient à la base de l'épithélium, les cellules souches de l'épithélium sont les seules qui expriment ce récepteur lors d'un marquage immuno histo chimique. C'est bien un récepteur lié à la capacité de prolifération, en se différenciant, la cellule perd l'expression de ce récepteur.

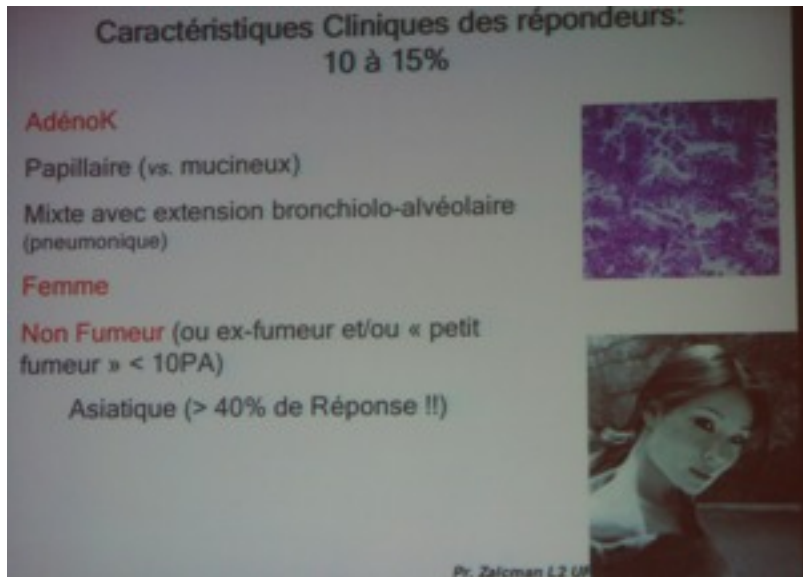
Quand on observe une lésion pré cancéreuse chez un sujet fumeur, les cellules de l'épithélium se mettent à proliférer et toutes les cellules qui prolifèrent expriment ce récepteur. Ceci est de plus en plus vrai au fur et à mesure de l'augmentation de la gravité de la lésion et d'autant plus vrai dans le cancer où les cellules surexpriment ce récepteur, puisqu'il donne un avantage à ces cellules, il donne un signal de prolifération. D'où l'idée qu'inhiber ce récepteur, peut être intéressant dans le cancer du poumon. Cette expression est notée dans 40 à 60 % des cancers des poumons, il y a environ un quart des cancers du poumon où il n'y a pas d'expression, c'est donc utile d'avoir cette cible dans les cancers du poumon.



On a fabriqué des médicaments capables d'inhiber les récepteurs à EGF.

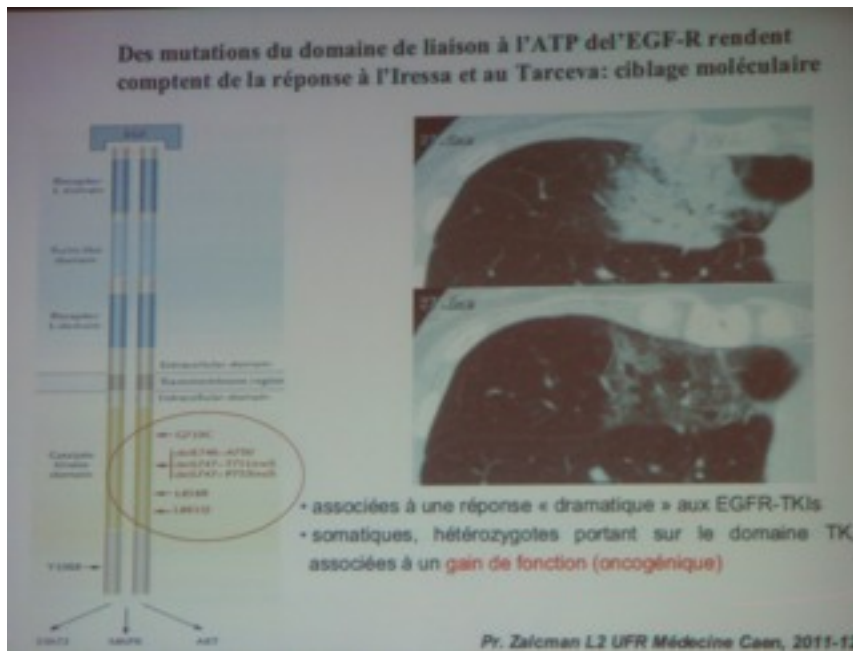
On a commencé à traiter les patients sans savoir qu'il existait des mutations de ce récepteur. On a constaté des réponses extraordinaires pour 10 à 15 % des patients, syndrome de Lazard (lève toi et marche), tant les patients étaient moribonds avant avec pleins de métastases.

Cette minorité de patients ont une forme particulière de cancer du poumon qui s'appelle un adénocarcinome (touche des structures glandulaires). Ce sont principalement des femmes non fumeuses ou ayant arrêté ou ayant très peu fumé.



Statistiquement le cancer du poumon est lié dans 85% des cas au tabac. Les 15 % sont des fumeurs passifs ou bien ils ont inhalé des substances carcinogènes sur leur lieu de travail. En Asie du Sud Est c'est 40 % , il y a un nombre important de cancer chez la femme non fumeuse.

Chez les fumeurs le traitement peut marcher. Cette enrichissement de cette population est lié à l'existence de mutations au sein de l'EGF-R. Cette mutation siège sur le domaine kinase du récepteur à EGF. Les patients qui ont ces mutations sont plus fréquemment des femmes , des non fumeurs, des asiatiques, Les lésions sont des adénocarcinomes, mais d'autres patients présentent ces mutations



Radio des poumons montrant une régression du cancer .

Cela reste vrai pour une minorité de patients , mais le résultat est spectaculaire : les patients étaient mourant, ne répondaient pas à la chimiothérapie, et il suffit qu'on leur donne un petit comprimé, pour que 10 jours après il soient en pleine forme.

Ces mutations sont des mutations dites oncogéniques, c'est à dire qu'elles donnent lieu à un gain de fonction. Les récepteurs mutés sont hyperactivés, mais quand ils sont mutés (inhibiteur à la place de l'ATP empêche le signal de prolif + présence mutation sur le récepteur => interaction inhibiteur-récepteur favorisée), ce qui explique que 15 % de ces patients bénéficient du traitement. Découverte fondamentale (ces découvreurs auront peut être la chance de recevoir un prix nobel d'ici 20 ans) . En pratique, cela veut dire que les gens qui ont une mutation ont une réponse à ces médicaments miracles dans 72 % des cas. Bien entendu, il existe des effets indésirables , qui concernent l'EGFR (epidermal Growth factor receptor) car agit au niveau de la peau => les traitements vont donner des boutons. Peut être très spectaculaire, avec des phénomènes de photosensibilisation.



La personne sur cette photo, qui était condamné, à réussi à gagner 3 bonnes années grâce à ce médicament miracle, malgré une photosensibilisation importante en réaction au médicament. Elle fut une des 1ere à participer à un essai clinique en France.

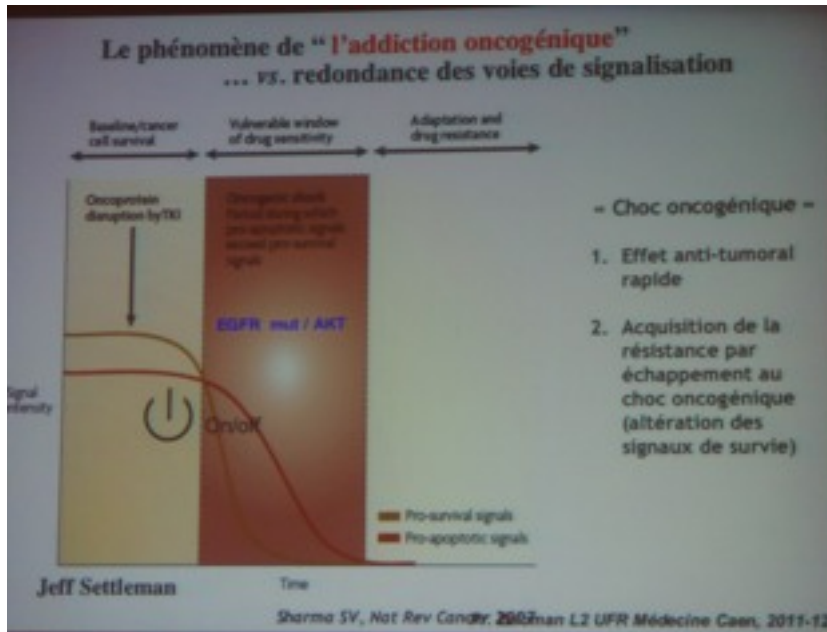
Lorsqu'un conçoit un médicament qui marche, on a des patients qui récupèrent, d'autres non. En terme de cancer, on va pouvoir observer le développement de résistances, c'est à dire, des patients qui étaient bien, vont brutalement avoir des métastases et la maladie semble progresser.

En séquençant le gène de l'EGFR au niveau des métastases, on s'est aperçus qu'une nouvelle mutation sur l'EGFR empêchait la fixation du médicament dans le site enzymatique. Ce n'est pas une mutation qui a été créée : dans un cancer, il y a 10 milliards de cellules, si une seule présente une mutation de résistance, on va tuer toutes autres, et c'est cette seule cellule résistante, qui en 2-3 ans, va redonner des métastases => Phénomène de pression de sélection, pré-darwinien en quelques sortes, on tue les cellules sensibles, et on sélectionne les cellules résistantes empêchant l'effet du médicament. C'est un phénomène général dans le cancer, et c'est pour cela que l'on utilise plusieurs médicaments à la fois, pour éviter le risque d'émergence d'un clone résistant.

En 2004, on a décrit le mode d'action du médicament, des réponses extraordinaires. En 2005, on a décrit les modes de résistance, et à la fin de l'année on décrira des médicaments qui vont être actifs sur ces mutations de résistance.

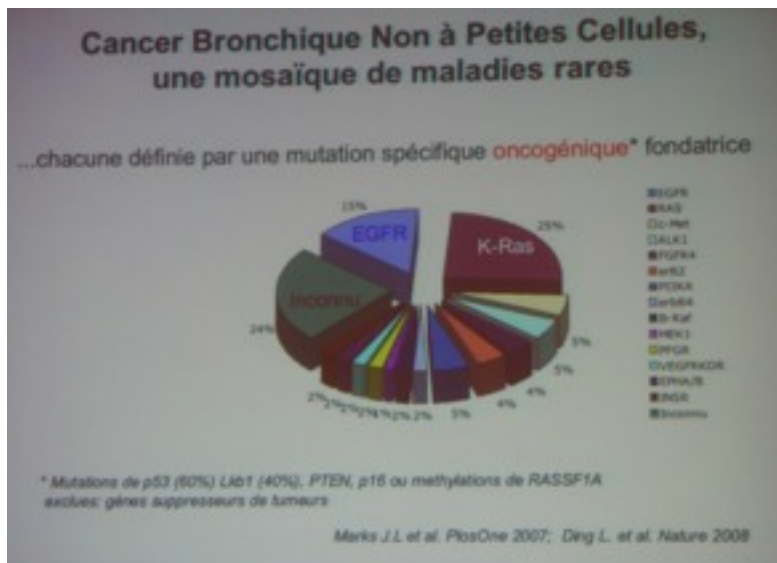
Actuellement, la règle de traitement dans le cancer du poumon : on séquence systématiquement le gène de l'EGFR devant tout nouveau cancer du poumon. Ce qu'on appelle les « sauvages », c'est à dire ceux qui n'ont pas de mutation, auront de la chimiothérapie. Les autres auront le comprimé miracle, véritable paradigme qui est apparu ces dernières années.

En 2000, en moyenne, les gens qui avaient un cancer du poumon vivaient 8 mois. Maintenant, avec ces médicaments, 15% des patients atteignent en moyenne 25 à 30 mois. Reste une maladie grave, mais impact +++ et révolutionne la prise en charge des cancers.



Comme pour l'informatique, il suffit d'appuyer sur le bon « bouton » pour arrêter le système, chaque type de cancer à une signalisation altérée principale, il faut la trouver, et appuyer dessus. On a jamais démontré ce mécanisme expérimentalement, mais on pense que dans une cellule cancéreuse, il y a une balance entre les voies de signalisation qui favorisent la survie et la prolifération et les voies de signalisation qui favorisent la mort, l'apoptose. Dans le cas des cellules cancéreuses, cette balance est déséquilibrée en faveur de la prolifération. Il suffit de faire en sorte que la balance passe dans l'autre sens, c'est à dire de favoriser les voies d'apoptose, par rapport aux voies de prolifération, et on arrive à tuer la cellule. Ce bouton marche/arrêt, ici dans le cancer du poumon avec mutation de EGFR, c'est d'agir sur la voie d'EGFR .

On s'est aperçut dans les 5 dernières années, qu'il n'y avait pas un cancer du poumon, mais plusieurs cancers du poumon, déterminés chacun par un type de mutation, et sur lequel on essaye de cibler les médicaments. Très fréquemment, mutation EGFR, K-Ras. Et mutations essentiellement de récepteurs tyrosine kinase, peut être 2 à 25 % pour K-Ras. On distingue les 85% qui sont liés au tabac, avec peu de mutation EGFR, beaucoup de mutations K-Ras, et une répartition des mutations qui est différente, de ceux que l'on observe chez les non-tabagiques, ou ex-fumeurs, ou l'on a une majorité de mutations à l'EGFR. Actuellement, il y a environ 1/3 des patients dont on ne connaît pas l'origine de la mutation responsable de leur cancer. Il y a une mosaïque de cancers différents, caractérisés par des mutations qui ont induit la 1ere cellule a devenir cancéreuse.



II. GENES SUPPESSEURS DE TUMEURS ET EPIGENETIQUE

La régulation des gènes passe par les gènes eux même, mais aussi par un contrôle après la transcription des gènes en ARN = Epigénétique.

En pratique dans le cancer, il y a des mutations, des aberrations chromosomiques, des anomalies épigénétiques de la conformation du matériel nucléaire. L'ADN n'est pas la seule vérité : chenille et papillon => exactement le même capital génétique, la même séquence d'ADN. Qu'est ce qui fait qu'avec les mêmes gènes on arrive a deux animaux aussi différents ? C'est ce qui se passe après la transcription des gènes en ARN, c'est le rôle de l'épigénétique. En matière de transformation cellulaire, l'épigénétique joue un rôle fondamental. Il y a 3 aspects qui peuvent être régulés :

- la transcription du gène, qui peut se faire ou pas. Tous les gènes ne sont pas activés en même temps, il y a des mécanismes épigénétiques qui empêchent la transcription des gènes. Cet empêchement de la transcription peut se faire sur 2 niveaux : d'une part des modification biochimiques, physiques directes au niveau de l'ADN et d'autre part des modification de la conformation des chromosomes . 3eme possibilité, le gène s'exprime, synthèse d'un ARN, qui lui n'aboutit pas a la traduction d'une protéine, car soit la traduction s'interrompt, soit l'ADN est dégradé. La cellule est donc capable de réguler la traduction de ces ARN.

Il peut également s'agir d'une modification biochimique au niveau de la séquence d'ADN, souvent des méthylations. La modification de la structure de la chromatine passe par la dé-acétylation des histones, et la régulation des ARNm passe par des micro-ARN.

A- Méthylation

En amont de chaque gène, il y a une zone que l'on appelle le promoteur. Sur cette séquence promotrice se fixent les protéines que l'on appelle des facteurs de transcription. La fixation des facteurs de transcription entraîne un signal de synthèse, pour le gène, de son ARN. Mais on peut modifier la séquence promotrice biochimiquement, pour empêcher que les facteurs de transcription se fixent en amont des gènes : fixation d'un résidu méthyl sur les bases CG de l'ADN, c'est la méthylation.

C'est un évènement très fréquent qui est physiologique, ce qui explique que certains gènes s'expriment et donnent un têtard, puis, au bout de 3 mois, ces mêmes gènes arrêtent de s'exprimer puisque leur promoteur est méthylé, et d'autres gènes qui étaient méthylés jusqu'à lors vont s'exprimer à leur tour, et le têtard devient grenouille.

C'est en régulant l'expression de ces gènes de façon séquentielle que, à partir d'un même capital d'ADN, on arrive à avoir un phénotype différent.

C'est un mécanisme que l'on retrouve aussi très fréquemment dans l'embryogénèse.

Gènes supresseurs

Gènes supresseurs = gènes qui freinent le cycle cellulaire, ils sont récessifs. Pour les inactiver, il faut inactiver les 2 allèles : souvent, sur un allèle, perte du chromosome ou mutation, et sur l'autre allèle, méthylation du promoteur .

Tous ces gènes supresseurs ont une fréquence de méthylation de leur promoteur dans les cancers qui est variable mais très fréquente. L'inactivation des gènes supresseurs par méthylation de leur promoteur est très fréquente dans les cancers.

Exemple : promoteur du gène RASSF1 . Ce dernier, est situé sur le bras court du chromosome 3, bras court qui est perdu dans 50% des cancers humains, et sur l'autre allèle, on a une méthylation, c'est-à-dire que l'on a un groupement méthyl qui vient fixer la séquence promotrice, d'où pas de synthèse d'ARN, et donc pas de protéine.

Pourquoi ce gène est inactivé dans beaucoup de cancers ? C'est un gène supresseur extrêmement important, qui est un des effecteurs de Ras. Il est capable :

- d'entraîner l'apoptose
 - de réguler le cycle cellulaire en le freinant
 - de réguler la dynamique du cytosquelette (division cellule + migration)
- ⇒ d'où la nécessité de l'inactiver pour permettre la prolifération cancéreuse.

En séquençant l'ADN sur des bronches de sujets fumeurs, le promoteur de RASSF1, sur un cancer : on voit que les bases CG sont quasiment méthylées en totalité, les facteurs de transcription ne peuvent pas se fixer sur ce promoteur, le gène ne marche pas.

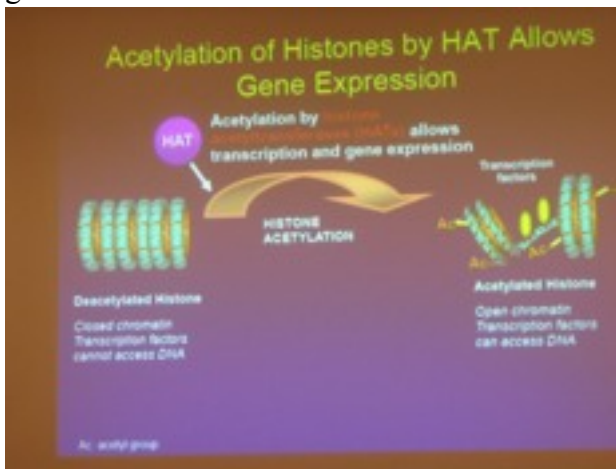
Si on prend de l'ADN sur des cellules à côté du cancer, ce sont des cellules pré-cancéreuses qui ont reçu du tabac. On voit que la méthylation est beaucoup plus rare.

Si on prend de l'ADN de cellules très à distance du cancer, aucune méthylation, le gène est fonctionnel dans ce tissu normal.

B- Acétylation des histones par l'histone acétylase

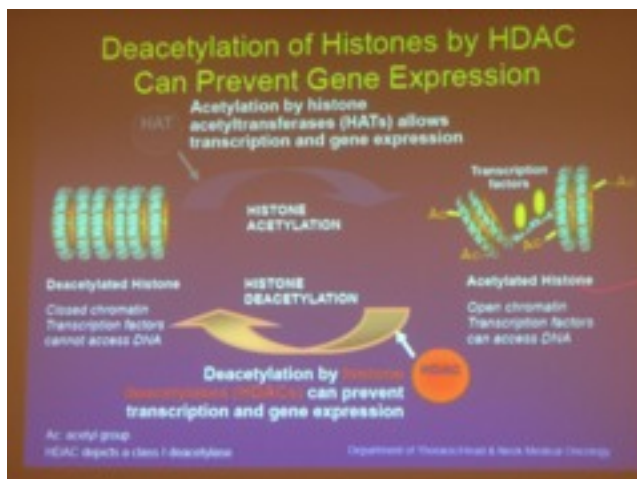
Le chromosome correspond au maximum de compaction de l'ADN. Cette structure résulte de l'interaction de la double hélice de l'ADN avec des protéines et va donner les histones. Lors de l'acétylation, l'ADN s'ouvre, les facteurs de transcription peuvent alors se fixer sur leur séquence spécifique et entraîner la transcription des gènes.

Acétylation à Ouverture de l'ADN à Fixation des facteurs de transcription à Transcription de gènes



L'acétylation est donc un mécanisme physiologique qui régule l'expression des gènes.

C- Déacétylation des histones par des histones déacétylase



Inverse de l'acétylation. La chromatine se referme, on a donc un arrêt de transcription des gènes.

Ces mécanismes permettent donc d'expliquer qu'on puisse avoir des phénotypes différents à partir d'un même capital génétique.

Médoc : Inhibiteur de l'histone déacétylase, pour traiter par exemple le lymphome T cutané, une maladie orpheline cancéreuse.

Dans les cancers, la déacétylation est la forme la plus fréquente, avec notamment les gènes suppresseurs de tumeurs qui sont non transcrits. Le but serait donc d'ouvrir cette chromatine afin de favoriser l'expression des gènes suppresseurs de tumeur.

D- Micro-ARN

Ce sont des ARN non codants synthétisés par la polymérase II et donnant lieu à un précurseur appelé pri-miARN. Ils sont codés par des gènes mais ne donnent pas lieu à la synthèse de protéine. Ils sont de petite taille, formant une boucle entre 2 brins ARN complémentaires. En sortant du noyau ils subissent une maturation pour aboutir à une séquence simple brin. Cette séquence simple brin se fixe sur l'ARNm, en 3', ce qui empêche la lecture de l'ARNm par le ribosome et donc la synthèse protéique et entraîne soit l'arrêt de l'ARNm, soit la dégradation immédiate de l'ARNm.

On estime que le génome humain code pour 500 à 1500 miARN.

Rôles des miARN :

- ⇒ Régulent la prolifération
- ⇒ Régulent la mort cellulaire
- ⇒ Action oncogénique s'ils sont surexprimés
- ⇒ Action gène suppresseur de tumeur s'ils ne sont plus exprimés

Piste thérapeutique : Si-ARN (spécificité beaucoup plus grand que miARN), qui permettent d'inhiber 4 à 5 gènes. Utilisé en biologie pour éteindre l'expression de certains gènes et étudier l'effet sur la cellule.

Rq : MiARN peuvent être dosés dans le sang.

Contrairement aux ARNm, les miARN sont très stables et très résistant à la RNase (molécule qui détruit l'ARN, ubiquitaire). On retrouve ces miARN dans la circulation, phénomène physiologique. Une cellule peut communiquer avec une autre cellule, à distance ou non, en relargant des miARN dans la circulation, dans des exosomes, qui seront endocytosés par un autre type cellulaire. Les miARN vont alors réguler les gènes de ces autres cellules à Rôle dans la communication intercellulaire : Une cellule tumorale peut ainsi réguler la transcription de cellules normales à distance (immunitaires, endothéliales...)

Rq : - Les miARN peuvent se lier à des transporteurs protéiques comme le HDL.
- Peuvent être utilisés comme marqueurs diagnostic.

E- Un gène suppresseur de tumeur important, la p53

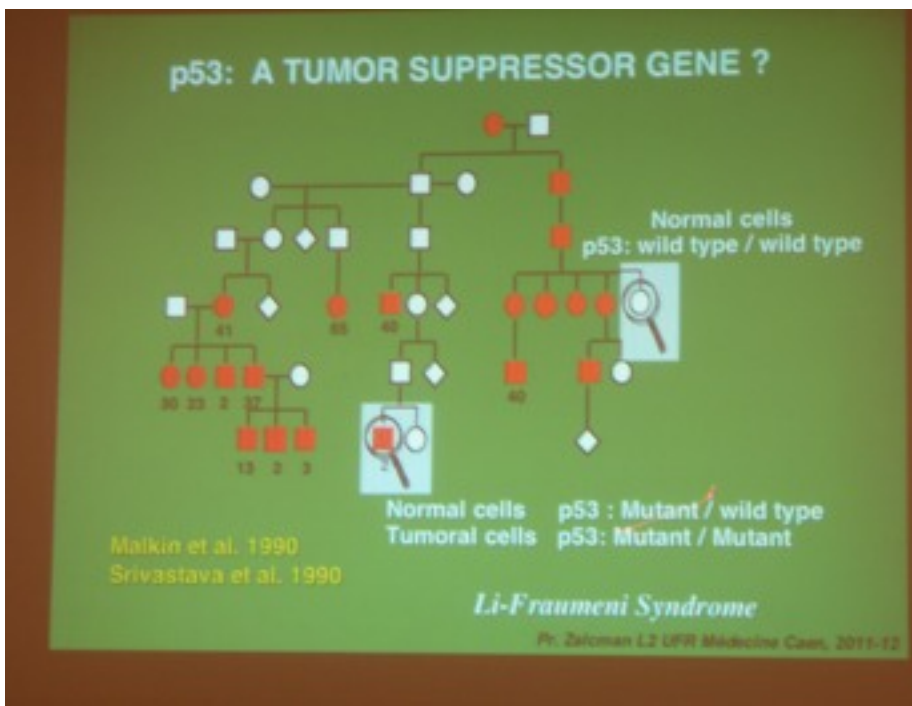
Cancer : Inactivation de p53 ++++. Protéines virales empêchent le bon fonctionnement de p53.

Ex : Papilloma virus, Sarcome de Kaposi, VIH, mononucléose infectieuse.

Dans les cancers, le nombre de mutation de p53 est considérable. Dans le cancer du poumon, on peut estimer la fréquence de ces mutations à 70%, alors qu'elles ne sont pas présentes avec le papilloma virus, puisqu'il inactive p53.

Pour que le gène p53 soit inactivé, il doit jouer un rôle fondamental (gène suppresseur de tumeur), il doit être récessif.

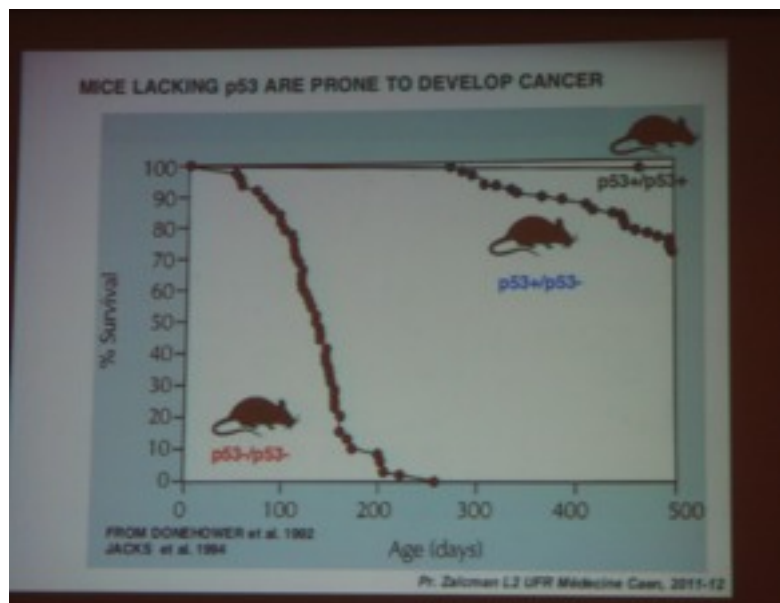
La première description s'est faite dans le cancer du poumon, 1980 : 70% avaient des mutations. Ces mutations siègent sur 1 allèle, et l'autre allèle (bras court du chromosome 17), est perdu. =preuve expérimentale que pour inactiver p53, il faut inactiver les 2 allèles. Très vite, on s'est aperçu qu'il y avait des familles de cancers, (lymphomes, sarcomes...), de plus en plus fréquent. En général, les pathologies qui se transmettent de génération en génération sont dues à des mutations sur la lignée germinale. Il suffit alors d'un seul évènement dans un tissu somatique adulte pour faire du cancer car il n'y a plus qu'un allèle qui fonctionne. Il suffit d'inactiver le 2em pour faire du cancer à l'endroit de l'inactivation. Tous les gènes suppresseurs de tumeur fonctionnent de cette manière.



Diapo : Si on regarde la fille (entourée, en blanc), elle n'a jamais fait de cancer. Quand on séquence son gène p53, on trouve un p53 normal, sauvage, sans mutation sur les 2 allèles.

On regarde ensuite le garçon de la 4eme génération (en rouge). Il a développé un cancer à l'âge de 18 ans. On va donc séquencer l'ADN de ces cellules cancéreuses et des cellules normales. Dans les cellules normales, il y a 1 allèle qui est muté et l'autre sauvage, et dans les cellules cancéreuses, les 2 allèles sont mutés.

Modèles expérimentaux : Souris KO + voir ronéo 14.

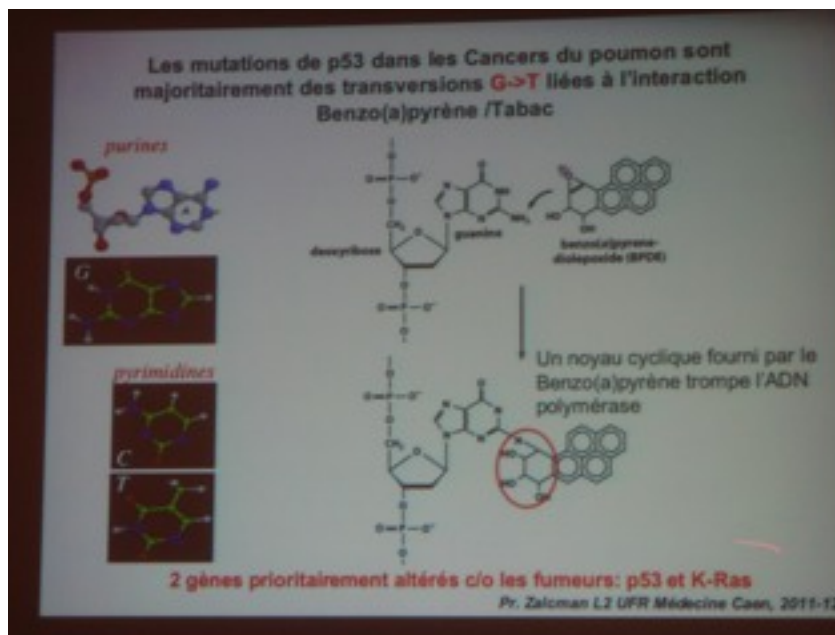


On va inactiver une copie du gène, un allèle ou les 2.

- ⇒ 1ere souris : homozygote saine
- ⇒ 2eme souris : hétérozygote : on a inactivé 1 allèle, elle meurt précocement avec des cancers
- ⇒ 3eme souris : homozygote mutée : inactivation des 2 allèles de p53, meurt aussi très précocement.

Capacité de reproduire le modèle animal en inactivant les 2 allèles du gène à cancers à 3eme caractéristique des gènes suppresseurs de tumeurs.

Cancer du poumon : Transversion +++ (G à T). Ce phénomène est induit par des interactions entre l'ADN et des produits exogènes, qui ne sont pas synthétisés par l'organisme. Cela a permis de montrer le rôle indiscutable du tabac dans la genèse du cancer du poumon. En effet, le benzoapyrène est capable d'interagir avec une guanine et de former une structure que la polymérase va reconnaître comme un double cycle et va se planter quand elle synthétise l'ADN au moment de la réplication. Au lieu de mettre une guanine, elle va mettre une thymidine, et vice versa. P53 n'est pas le seul à être muté par ce mécanisme. RAS lui-même est muté après interaction avec le benzoapyrène (oncogène).



Le benzoapyrène est capable de se lier à l'ADN exactement au même niveau que les séquences de p53. à Rôle direct des carcinogènes de la fumée de tabac sur la cancérisation des cellules épithéliales bronchiques.

Rq : La mutation de p53 est précoce dans le cancer bronchique.

Le gène p53 est un facteur de transcription qui possède un domaine d'interaction avec l'ADN et un domaine qui permet d'activer la transcription de gènes. La p53 a la capacité de se tétramériser et c'est ce tétramère qui va se lier à la séquence spécifique de l'ADN. Il se lie en amont du gène, sur des séquences promotrices et va être capable de réguler la transcription de certains gènes (environ 400).

Les rôles de la p53 :

- ⇒ Régulation de la prolifération
- ⇒ Régulation des gènes de l'apoptose
- ⇒ Régulation des gènes de réparation d'ADN

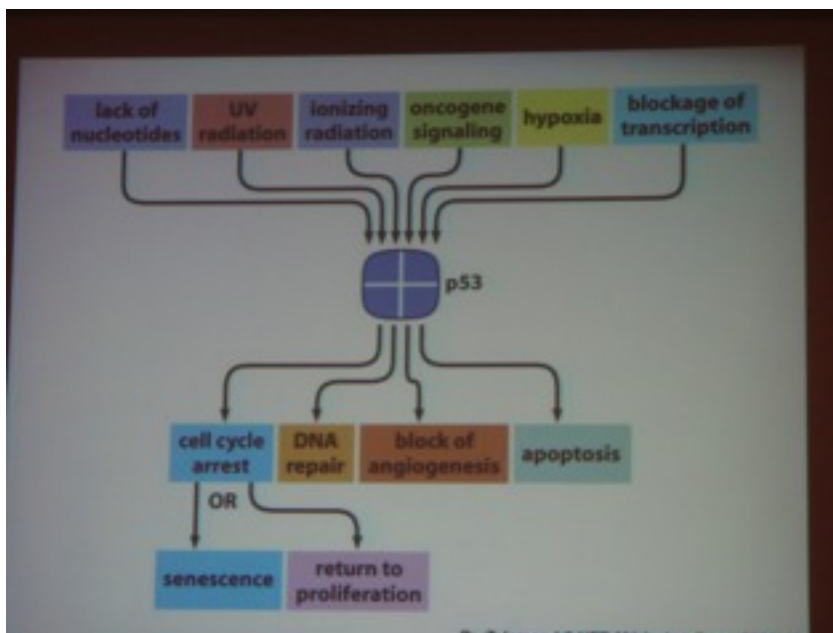
P53 est au carrefour de nombreuses signalisations importantes pour la cellule, c'est pourquoi la p53 doit être inactivée pour faire du cancer. En stimulant la transcription de certains gènes, p53 est capable d'arrêter le cycle cellulaire, ou d'induire l'apoptose. P53 est donc le gardien du génome. Si lésions (irradiations+++), elles sont détectées par des protéines (kinases, acétylase), entraînant une modification de la p53 en la phosphorylant ou en l'acétylant et ainsi l'activer. P53 va alors arrêter le cycle cellulaire et permettre à la cellule de réparer la lésion, mais si elle est trop importante, p53 va induire un signal de mort. Tous les dommages de l'ADN n'entraînent pas une activation de p53. Cassures simple brin de l'ADN, capables d'induire l'expression de p53. Système sensible ?

Micro injections d'ADN linearisé ou circulaire dans les cellules qui vont mimer les coupures de l'ADN. Une seule molécule d'ADN linearisé suffit pour entrainer l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose.

Si injection d'un plasmide, p53 n'est pas induite donc pas d'arrêt du cycle. à Système TRES sensible, une cassure peut être détectée par ce système.

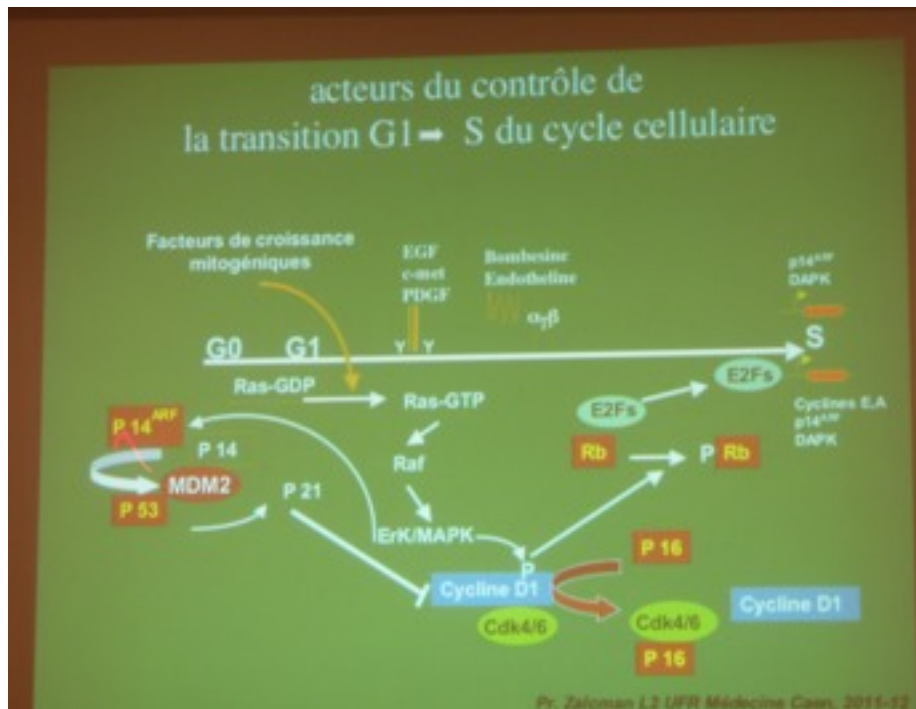
Stimuli :

- ⇒ Hypoxies
- ⇒ Radiations ionisantes
- ⇒ Manque de nucléotide



La régulation est elle aussi très fine, avec des phénomènes de feedback. P53 va induire l'expression d'une protéine, mdm2, qui est un oncogène amplifié (présent dans les sarcomes notamment). En fait, la p53 agit sur le promoteur de mdm2, mdm2 se fixe sur p53 et entraîne une ubiquitination (modification qui permet aux protéines d'être dégradées rapidement dans le proteasome). Dans une cellule normale, il n'y pas de lésion d'ADN donc pas besoin de beaucoup de protéines p53 et la demi vie de la protéine étant courte, elle est dégradée en 20min. C'est une boucle d'autorégulations négatives. P53 induit son propre destructeur. Si mutation de p53, la protéine est inactivée et est incapable de stimuler la transcription de mdm2 donc pas dégradée, elle va s'accumuler, sa demi vie va s'allonger et devient détectable dans les cellules sous la forme d'un marquage IHC. Lorsque la demi-vie est courte, la protéine n'est pas détectable. C'est donc une protéine qui s'accumule et qui est inactive.

Diapo : transition G1-S : de la phase de quiescence à la phase de synthèse d'ADN.



Signal= facteurs de croissances qui agissent sur des récepteurs, ce qui entraîne une activation de la protéine RAS. On a donc une cascade de phosphorylations, voie des MAP Kinases, qui aboutissent à la phosphorylation des cyclines et de pRb, qui va libérer des facteurs de transcription qui ont pour rôle de stimuler la synthèse de gènes important pour la division cellulaire. P53 va stimuler la synthèse d'un inhibiteur de cycline, p21, et va arrêter ce processus.

Système très régulé, les cascades de phosphorylations activent p53 en cassant l'interaction de p53 avec son inhibiteur physiologique, p53 est libéré et peut alors inhiber la transition G1-S.

La p14 quand elle est phosphorylée permet l'arrêt du signal. Elle est codée par un gène situé sur le chromosome 9. Ce gène (9p21) est détecté dans un nombre de cancer important. Il code donc pour p14 qui est un activateur de p53, et p16 (aussi un suppresseur de tumeur) qui inhibe les kinases des cyclines.

Méthylation d'un allèle+ perte autre allèle : gènes récessifs suppresseurs de tumeur.

III. Carcinogénèse multi étapes du cancer du poumon

On peut détecter des mutations bien avant la survenu du cancer. Pour faire un cancer, il faut des gènes mutés. Cela se fait étape par étape. C'est la carcinogénèse multi étapes.

La première démonstration a surtout été faite dans le cancer colo rectal. On part d'une cellule avec une mutation, qui va guérir d'autres mutations, permettre de proliférer et

d'acquérir des capacités de migration pour ensuite faire des métastases. Toutes ces étapes correspondent à des événements successifs moléculaires.

Etudes cytologiques de Saccomano : Il est capable d'observer des anomalies cellulaires dans les crachats de ses patients, en moyenne 5 ans avant la survenue de cancer (atypie modérée).

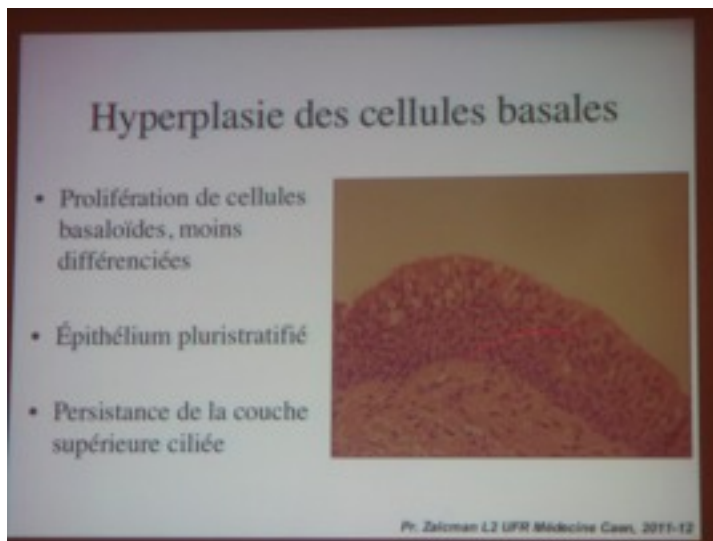
Quand les cellules avaient vraiment une sale gueule le cancer survenait entre 3 et 4 ans après et quand elles avaient une gueule de cellule cancéreuse, 2 ans après. Un événement très précoce précède la survenue d'un cancer invasif.

Chez un fumeur :

- ⇒ Atypies sévères : 20 à 40% de risque de développer un cancer dans les 5 à 10 ans qui suivent.
- ⇒ Atypie modérées : 15%
- ⇒ Cellules quasi normales : 3%

En pratique dans un épithélium on peut distinguer ces différentes étapes. Il y a des anomalies morphologiques.

Phase d'hyperplasie où on voit les cellules basales qui se mettent à proliférer.



Phase de métaplasie, la cellule bronchique adopte une autre forme, ça ressemble à de la peau, c'est ce qu'on appelle la métaplasie épidermoïde.



Phase de dysplasie, anomalies dans la forme des noyaux, il y a des mitoses anormales, on aboutit à un carcinome in situ.

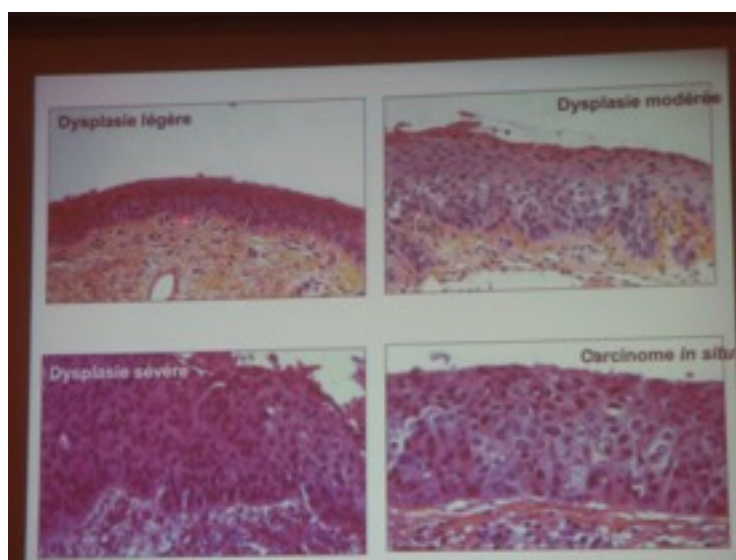
Toutes ces étapes prennent plusieurs années et correspondent à des anomalies moléculaires qui s'accumulent.

Rq : Très bien décrit dans le cancer épidermoïde (lié au tabac).

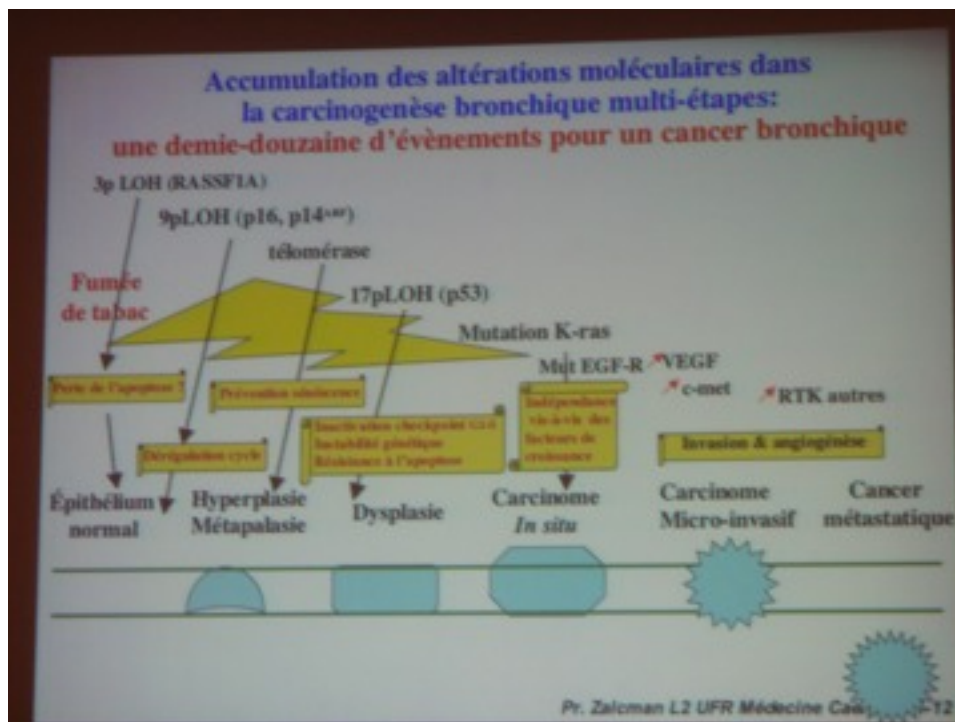
Couche basale (couche de cellules souches) et cellules ciliées très différenciées.

Un fumeur qui présente des lésions d'hyperplasie présente plusieurs couches basales, la forme des cellules change, elles s'aplatissent (ressemble à une cellule invasive).

Quand dysplasie sur 1/3 de l'épithélium= léger, 2/3=modéré, totalité= sévère. On a donc un cancer in situ, car non franchissement de la membrane basale.



A chaque mutation, une propriété et une morphologie différente, jusqu'à avoir tout ce qu'il faut pour faire du cancer.



IV. Conclusion

A des étapes morphologiques différentes sur l'épithélium correspondent des événements génétiques qui vont réguler des fonctions très importantes dans le contrôle du cycle cellulaire et de la mort cellulaire. Ordre aléatoire. Pour chaque cancer, la séquence des gènes peut être différente, les gènes impliqués peuvent être différents mais ce sont toujours les mêmes fonctions : régulation du cycle, apoptose, invasion et motilité.

Dédicace à Amélie et sa Twingo rose (ou plutôt taxi 4), avec qui j'ai frôlé la mort. Belle mort certes, mais mort quand même.
 Amélie, On t'aime, un peu.



Comme tu es sur la photo Alex, je te fais une petite dédicace aussi parce que tu m'as bien faite ch*** le jeudi soir 17 novembre à me demander toutes les 2 secondes « Hé Miss Bizuuut !!! Elle est où Amélie là !!!!! Mais elle est où ma sœur putainnnn !!!!!!!!!!!!! » En me criant dans les oreilles.

Alors merci à la famille Bernard, parce qu'avec eux on ne s'ennuie jamais ! ☺ ☺