

**TD 5 : Génétique moléculaire,  
cancérogenèse et thérapie ciblée**

**Génétique moléculaire :** Les principales applications médicales de la biologie moléculaire portent sur les maladies génétiques. Deux stratégies sont utilisées :

a) la stratégie directe, qui est la mise en évidence de mutations génétiques; elle permet un diagnostic certain;

b) la stratégie indirecte, qui porte sur la mise en évidence du chromosome portant le défaut génétique; elle ne permet qu'un diagnostic probable.

Le diagnostic de prédisposition aux maladies est encore peu développé; il fait l'objet de recherches actives.

La biologie moléculaire est de plus en plus utilisée pour le diagnostic de maladies acquises. Son champ principal d'application est la virologie, elle permet l'identification précoce, précise et sensible des virus.

Elle apporte de plus des renseignements qu'aucune autre technique ne peut fournir.

Les autres applications portent sur la bactériologie essentiellement pour l'identification de bactéries «difficiles, la parasitologie, la cancérologie. Elle est également utilisée en médecine légale. Toutes ces applications sont en cours de développement et prendront une place très importante en biologie clinique. Elles seront facilitées par l'utilisation de kits et d'automates.

**Le cancer :**

Le cancer est une maladie génétique se développant en plusieurs étapes. Plusieurs circonstances sont donc nécessaires pour le développement de la maladie.

**Une prédisposition génétique :** Les différences d'incidence des cancers chez les individus exposés aux mêmes carcinogènes soulignent l'influence de facteurs individuels de susceptibilité. Ces facteurs peuvent être héréditaires ou non.

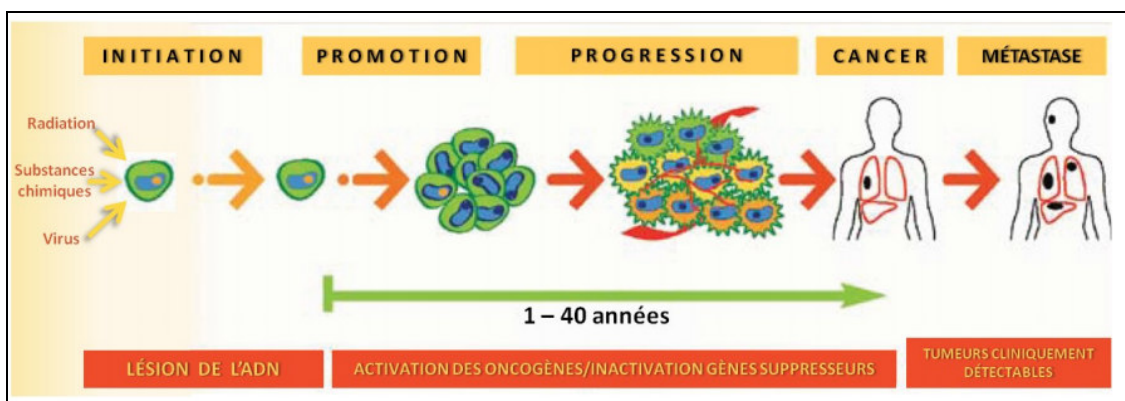
**Cancérogenèse**

Le cancer se développe à partir d'une cellule qui subit une mutation puis se transforme en transitant par trois principales étapes.

La cancérogenèse débute par une phase d'initiation. C'est-à-dire que la conséquence d'une mutation dans l'ADN résulte en un changement fonctionnel de la cellule atteinte. Cette cellule entre en phase de promotion pendant laquelle la synthèse d'ADN est augmentée. Il y a

**TD de génétique de la 2<sup>ème</sup> Année de Médecine**

une surproduction de prostaglandines, de protéines Ras, d'oncoprotéines et de facteurs de croissance tels PDGF, TGF $\alpha$  et  $\beta$ , EGFR et bFGF. La transduction du signal est augmentée par l'activation de protéines G membranaires. L'activité métabolique des cellules transformées est altérée. Les cellules tumorales se multiplient de façon incontrôlée. Pendant la dernière phase de progression, la prolifération continue et les gènes suppresseurs de tumeurs perdent leur activité normale. Il y a une suractivation de métalloprotéases permettant le remodelage de la matrice extracellulaire. De nouveaux vaisseaux se forment afin d'alimenter la tumeur. L'invasion vers des sites secondaires est initiée pour en arriver à la formation de métastases.



**Figure :** Étapes de la cancérogenèse. Des agents néfastes affectent une cellule normale et l'initient à la cancérogenèse. La cellule entre en phase de promotion tumorale. Elle subit des lésions au niveau de l'ADN et cela déclenche la prolifération incontrôlée. Des oncogènes sont activés et des gènes suppresseurs sont inactivés pour amener les cellules en phase de progression qui peut durer des années. Finalement, le cancer s'établit et peut être diagnostiqué.

En suivant ces stades de développement, les tumeurs acquièrent des caractéristiques qui définissent leurs changements phénotypiques. Premièrement, elles deviennent indépendantes des signaux normaux de prolifération cellulaire. Deuxièmement, elles sont insensibles aux signaux antiprolifératifs. Troisièmement, il s'installe une résistance à l'apoptose. Quatrièmement, elles adoptent une capacité anormale d'angiogénèse. Cinquièmement, elles deviennent invasives et mènent à la formation de métastases. Sixièmement, leur capacité de réplication de l'ADN est illimitée.

### **Gènes impliqués dans l'oncogenèse**

On distingue 2 grands groupes de gènes : les oncogènes, et les gènes suppresseurs de tumeurs. - Un oncogène est un gène altéré, dont le produit (protéine) est impliqué dans la transformation d'une cellule normale en cellule tumorale. L'équivalent cellulaire normal de ce gène est appelé proto-oncogène. L'oncogène peut être altéré de différentes façons (mutations, amplification...) et cette altération aboutit à un gain de fonction. Il suffit qu'un seul des 2 allèles soit altéré pour observer l'effet oncogénique. Exemples d'oncogènes: gène RET (récepteur à activité tyrosine kinase) muté, Her2, BcrAbl, N-Myc, les oncogènes viraux : E6 et E7 de l'HPV, HBx de l'HBV... - Un gène suppresseur de tumeur est un gène dont la perte de fonction est impliquée dans la progression tumorale. L'altération du gène suppresseur de tumeur aboutit à une perte de fonction de la protéine correspondante, les 2 allèles du gène devant être altérés pour observer l'effet oncogénique.

Ces gènes suppresseurs de tumeurs constituent, lorsqu'ils sont actifs, de véritables "verrous" protecteurs empêchant la transformation tumorale de la cellule. Les gènes suppresseurs de tumeur peuvent être classés en 2 familles de gènes: - Les gènes impliqués dans le contrôle de la prolifération et de la survie cellulaire (gate keepers en anglais). Les principaux gènes suppresseurs de tumeur de cette famille sont pRb (protéine du rétinoblastome) et p53. Ces gènes sont apparus tardivement au cours de l'évolution - chez les eucaryotes pluricellulaires - et protègent la cellule contre la transformation tumorale en régulant le cycle cellulaire et l'apoptose. Pour de tels gènes, la réintroduction dans la cellule cancéreuse d'un gène fonctionnel aboutit à une réversion du phénotype tumoral. - Les gènes du maintien de l'intégrité du génome (care takers en anglais). Ces gènes contrôlent la stabilité et l'intégrité du génome cellulaire. On les retrouve dans tous les organismes vivants, des procaryotes aux humains. L'altération des 2 allèles de ces gènes conduit à une susceptibilité accrue aux cancers par instabilité génétique (accumulation de mutations). Exemples de gènes de maintien de l'intégrité du génome : BRCA1, ATM... Les altérations de la structure ou de l'expression des gènes impliqués dans la carcinogenèse peuvent être en rapport avec : - Des agressions génotoxiques: par des carcinogènes exogènes (aériens ou alimentaires) ou endogènes (radicaux libres) ou par des radiations ionisantes.

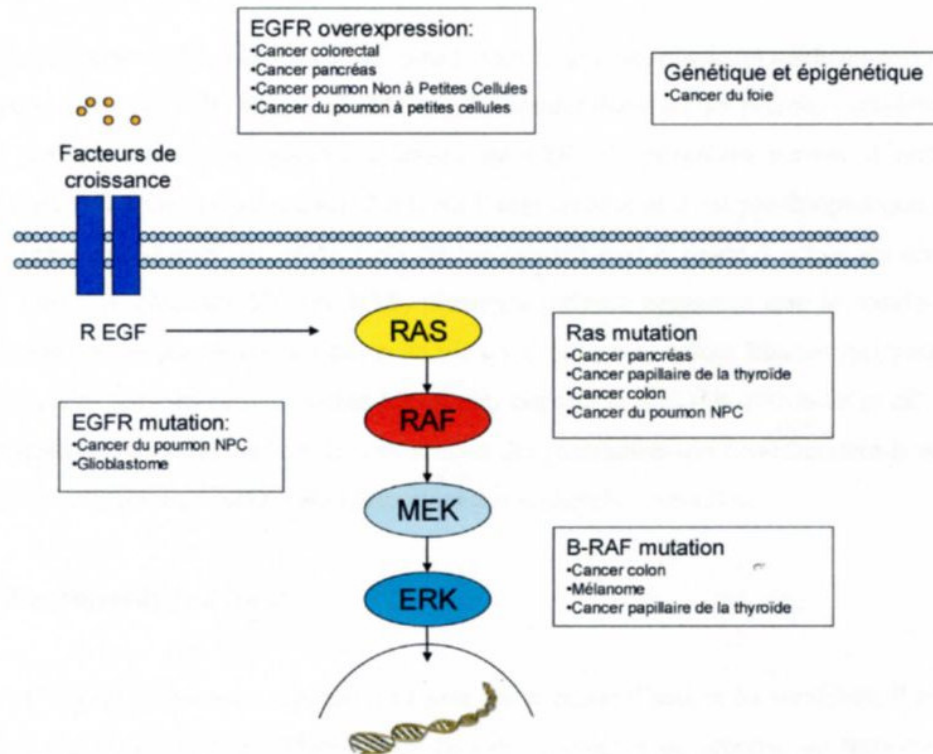
- Des agressions virales.
- Des erreurs "spontanées" et non réparées de réplication de l'ADN

### **Mécanismes moléculaires aboutissant à l'altération de ces gènes**

1. **Oncogènes** La conversion proto-oncogène-----oncogène aboutit à un gain de fonction. Cette conversion fait appel à 3 types de mécanismes : la survenue d'une mutation ponctuelle ou d'une délétion activatrice, l'amplification génique et le réarrangement chromosomique.

Plus rarement, certains virus s'intégrant au génome de la cellule hôte ont été identifiés comme inducteurs de tumeurs. • Survenue d'une mutation ponctuelle ou d'une délétion activatrice: La survenue d'une mutation ou d'une délétion (délétion d'une région régulatrice par exemple) au niveau du proto-oncogène aboutit à la production d'une protéine hyperactive. Par exemple, le gène RET, codant pour un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase, peut être muté en des points précis, avec pour effet une activation permanente de ce récepteur et une stimulation de la prolifération cellulaire. Cliniquement, une mutation activatrice du gène RET a pour conséquence un risque de cancer médullaire de la thyroïde de 100% chez la personne. Un autre exemple de proto-oncogène activé par ce mécanisme est le récepteur du facteur de croissance EGF (EGF-R ou Her1): la délétion du site de liaison au ligand de ce récepteur aboutit à son activation constitutive, car il n'est plus régulé par la liaison au ligand.

**TD de génétique de la 2<sup>ème</sup> Année de Médecine**



**Figure 2:** proto-oncogène et oncogène

- **Amplification génique**

L'amplification génique correspond à une duplication d'un gène en plusieurs exemplaires, aboutissant à une sur-expression de ce gène. Par exemple, le gène Her2 (appartenant à la famille des récepteurs transmembranaires à l'EGF) est amplifié dans 25 à 30% des cancers du sein et cette amplification, recherchée systématiquement dans toute tumeur du sein opérée, représente un marqueur thérapeutique (thérapie ciblée par Herceptin).

- **Réarrangement chromosomique**

Les réarrangements chromosomiques peuvent aboutir à la sur-expression d'un gène par juxtaposition de ce gène près d'une région activatrice de la transcription. C'est le cas, par exemple, du réarrangement chromosomique t(8,14) observé dans les lymphomes de Burkitt qui place le gène Myc (facteur de transcription) à proximité de régions régulant l'expression des gènes d'immunoglobulines (IgH). Ce réarrangement aboutit à une forte expression du

**TD de génétique de la 2<sup>ème</sup> Année de Médecine**

gène Myc favorisant la prolifération cellulaire. Une autre conséquence possible des réarrangements chromosomiques est la formation d'un gène hybride aboutissant à une protéine hybride (protéine de fusion) hyperactive. C'est le cas de la translocation t(9,22), observée dans la leucémie myéloïde chronique, qui aboutit à la protéine de fusion Bcr-Abl ayant une forte activité tyrosine kinase comparée à la protéine Abl seule, qui est un intermédiaire de la signalisation cellulaire.

**- Les virus**

Le génome viral peut s'intégrer près d'un gène régulateur de la cellule hôte et aboutir à un gène et à une protéine hybride. Par exemple, le virus à ADN de l'hépatite B peut s'intégrer près du récepteur à l'acide rétinoïque (facteur de transcription RAR) et altère son activité, aboutissant à un cancer du foie ou hépatocarcinome. Le virus peut également s'intégrer au hasard dans le génome de la cellule hôte mais exprimer des protéines régulatrices modifiant l'activité des gènes de la cellule hôte. C'est le cas du rétrovirus HTLV1 portant le gène Tax, qui peut induire des lymphomes ou certains types de leucémies.

**- Gènes suppresseurs de tumeur**

Ces gènes sont impliqués dans le processus cancéreux par le biais de leur inactivation (altérations des 2 allèles) Différents mécanismes aboutissent à cette double inactivation:

- mutations inactivatrices,
- délétions,
- anomalies lors de la mitose : non disjonction des chromosomes avec perte d'un chromosome, recombinaison mitotique, et
- conversion génique.