

Oncogènes et suppresseurs de tumeurs

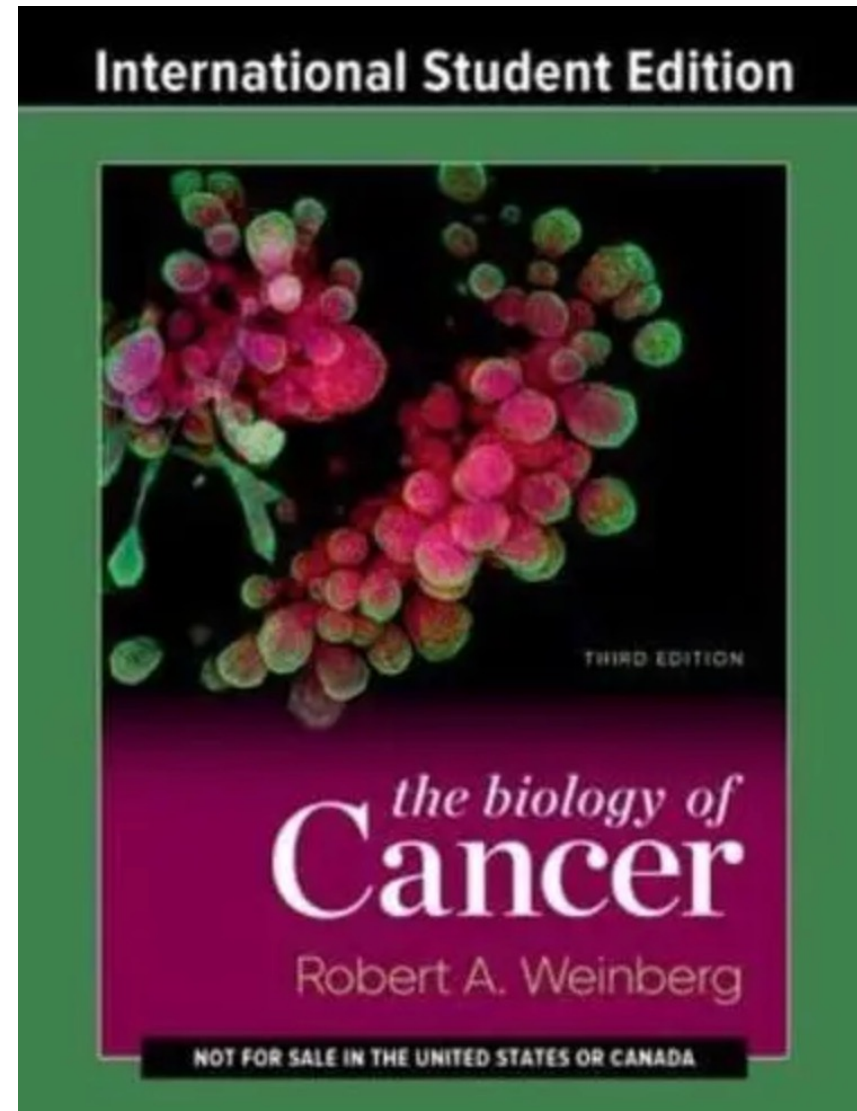
Pr. Boris BARDOT

Institut Curie – Centre de Recherche

Bâtiment 110

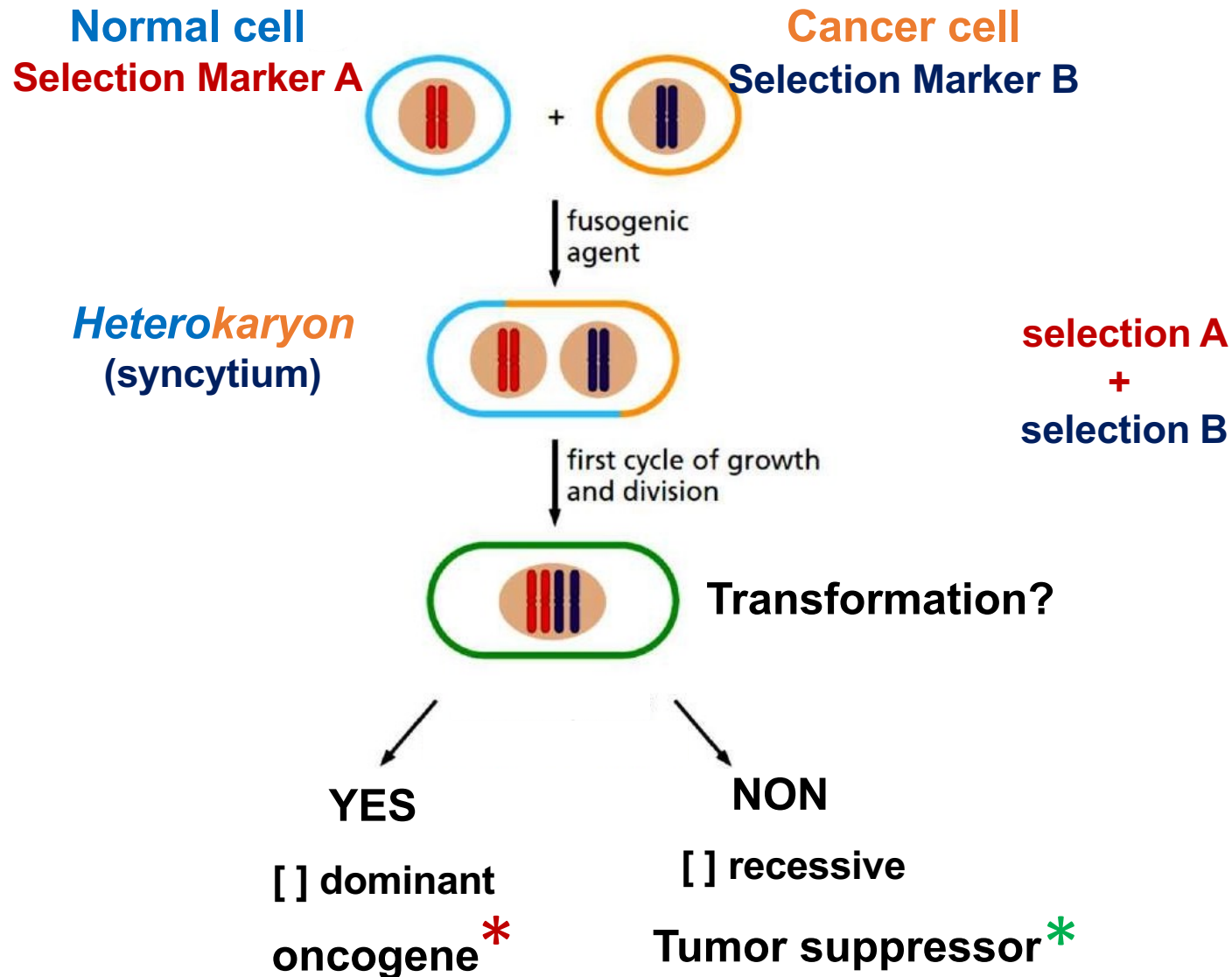
boris.bardot@curie.fr

Lecture recommandée

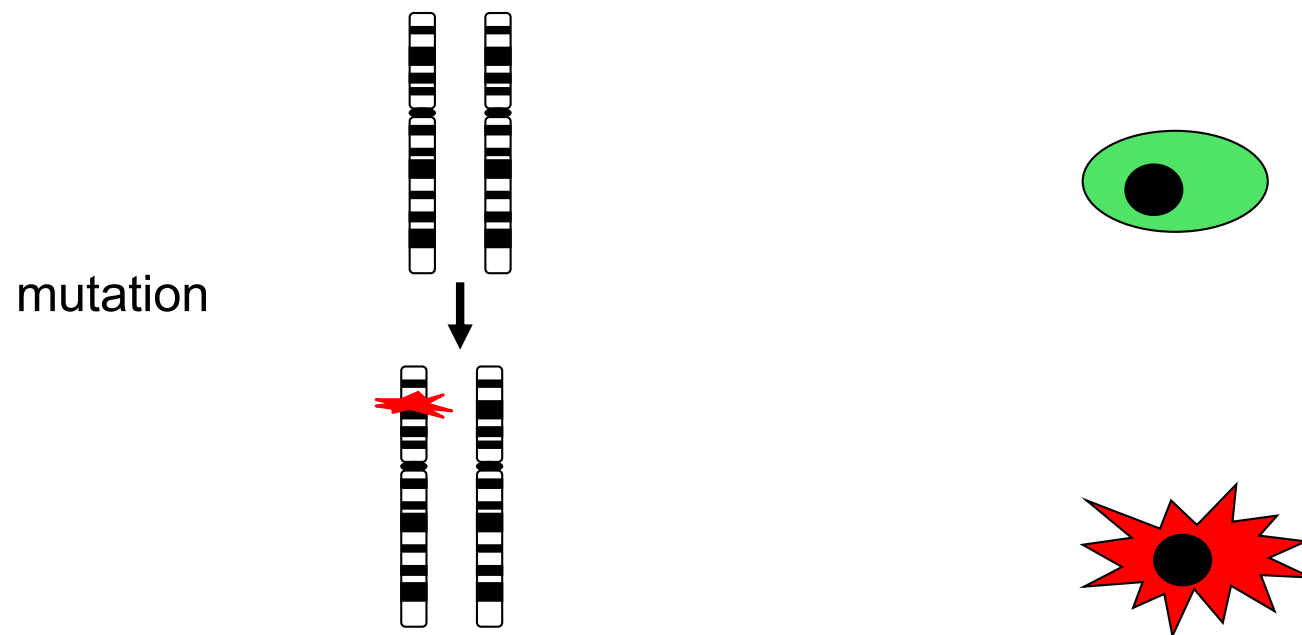


Oncogenes vs Tumor suppressors: The cell fusion experiments

❖ (1969) Henry Harris

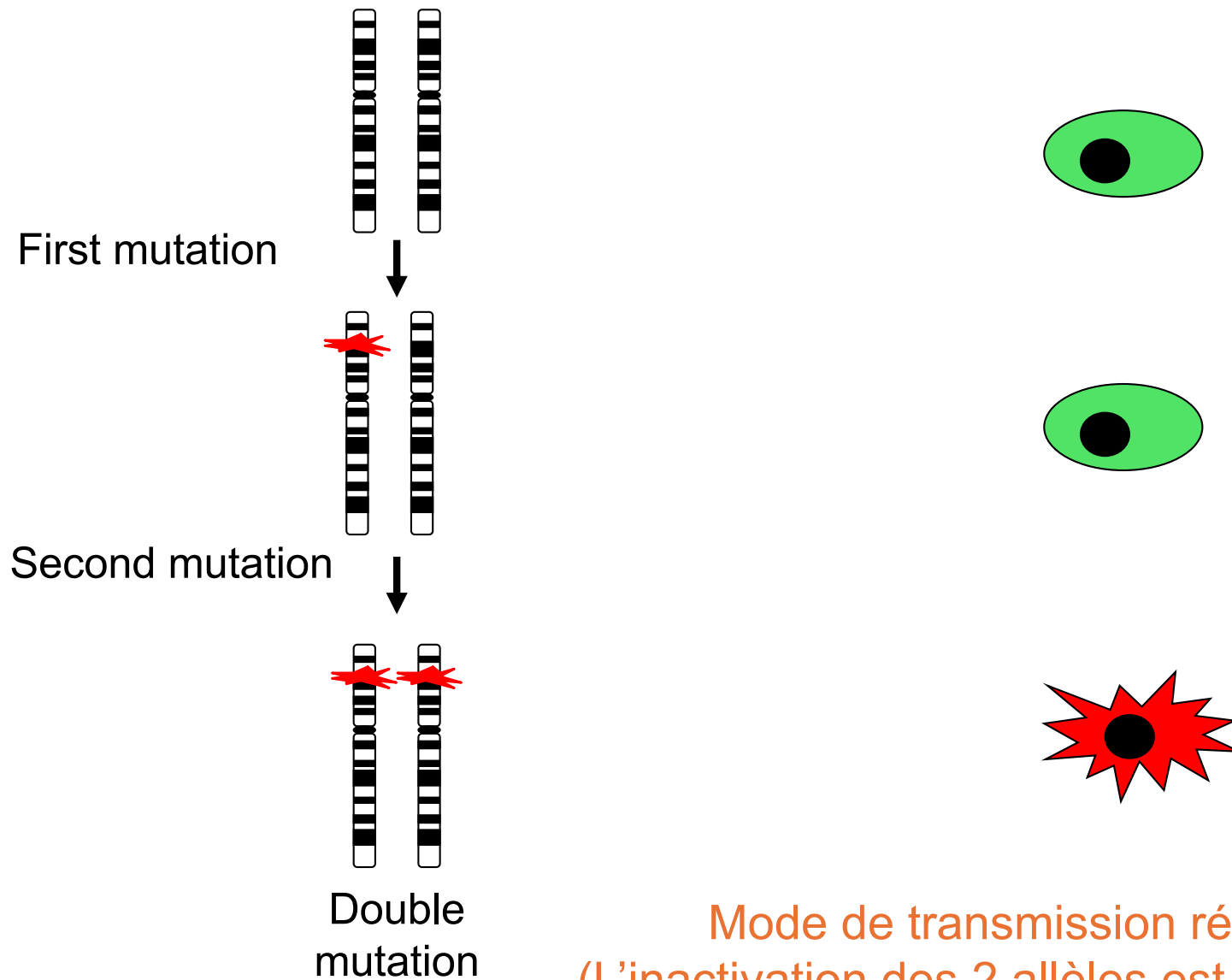


Oncogenes



Mode de transmission dominant
(1 mutation activatrice suffit)

Les genes supprimeurs de tumeurs



Mode de transmission récessif
(L'inactivation des 2 allèles est nécessaire)
Two hit hypothesis of Alfred Knudson (1971)

I/ ONCOGENES

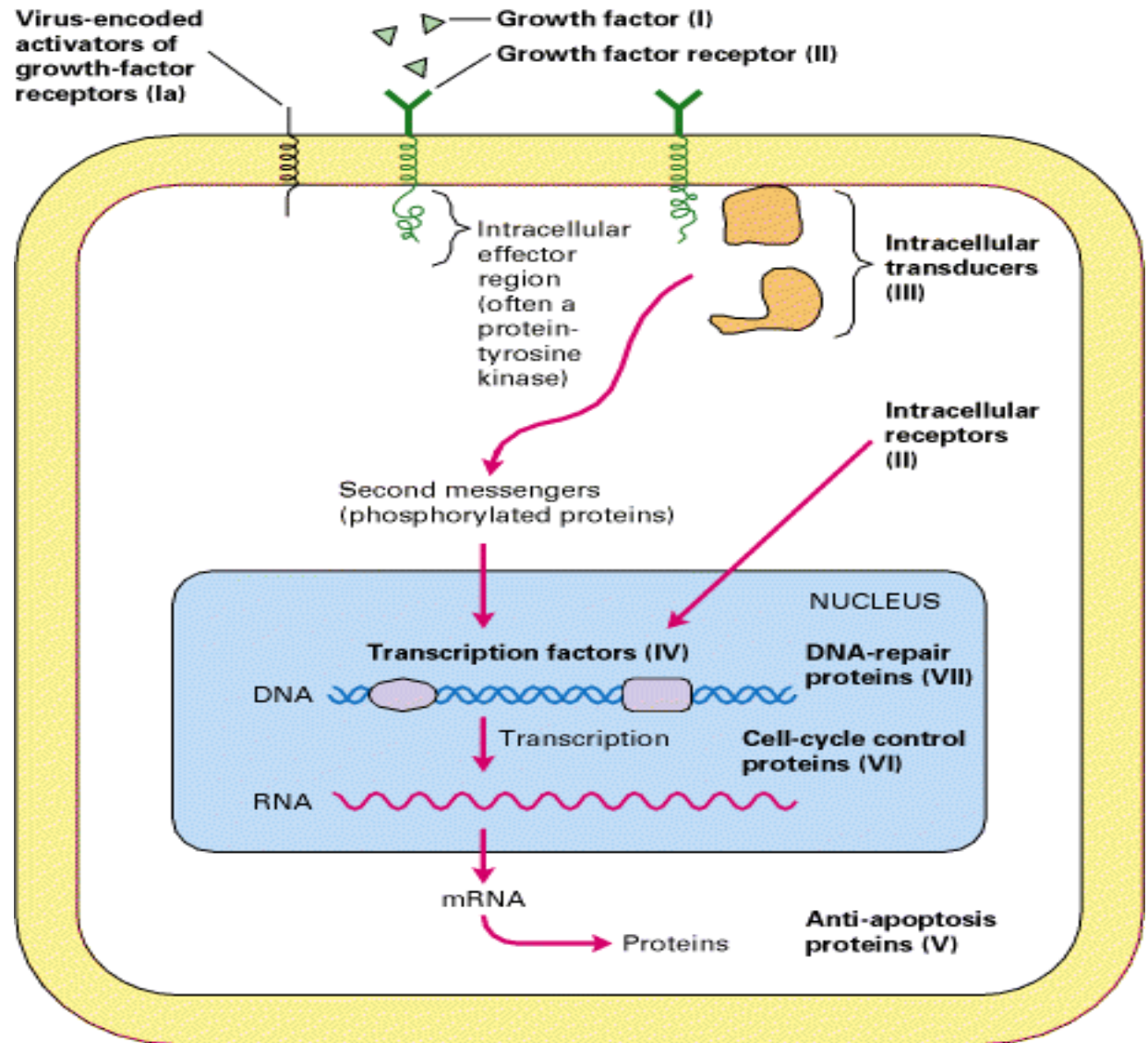
ONCOGENES

Come from a mutation of a "normal" gene often called **proto-oncogene**.

In normal cells, proto-oncogenes are often involved in the transduction of a proliferation or survival signal.

In cancer cells, mutations lead to the appearance of **overactive and/or in excess proteins**.

Oncogenic mutations exhibit their effect on a dominant mode



Mécanismes principaux d'activation des oncogènes

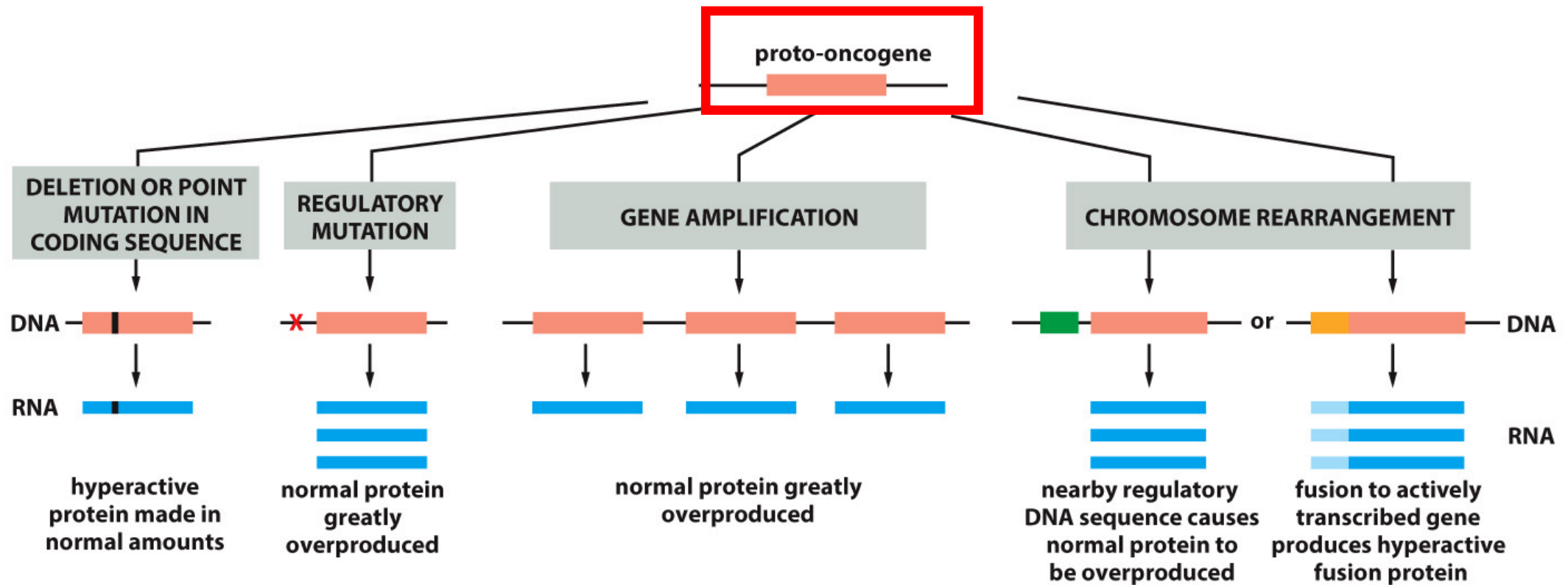
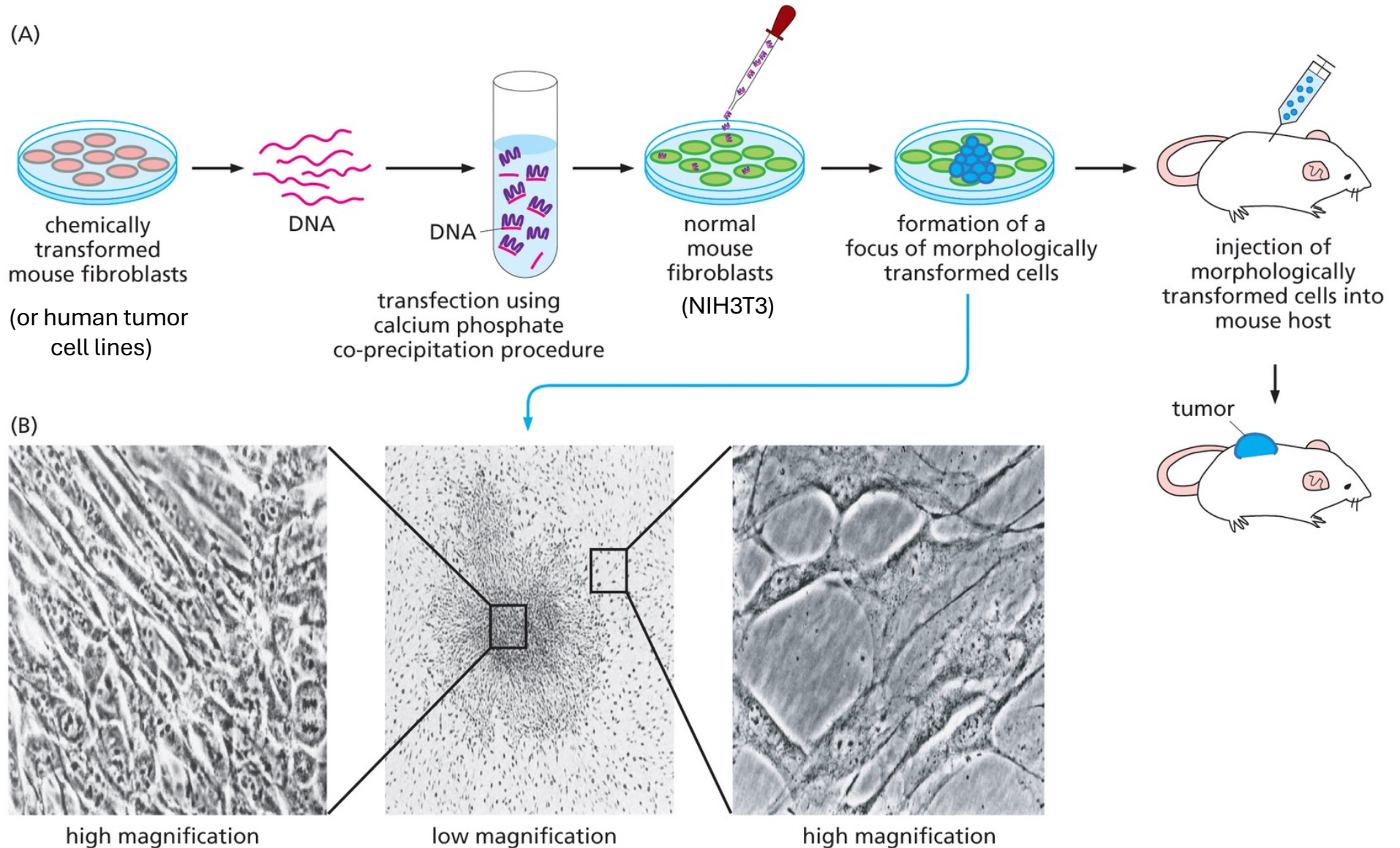


Figure 20-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

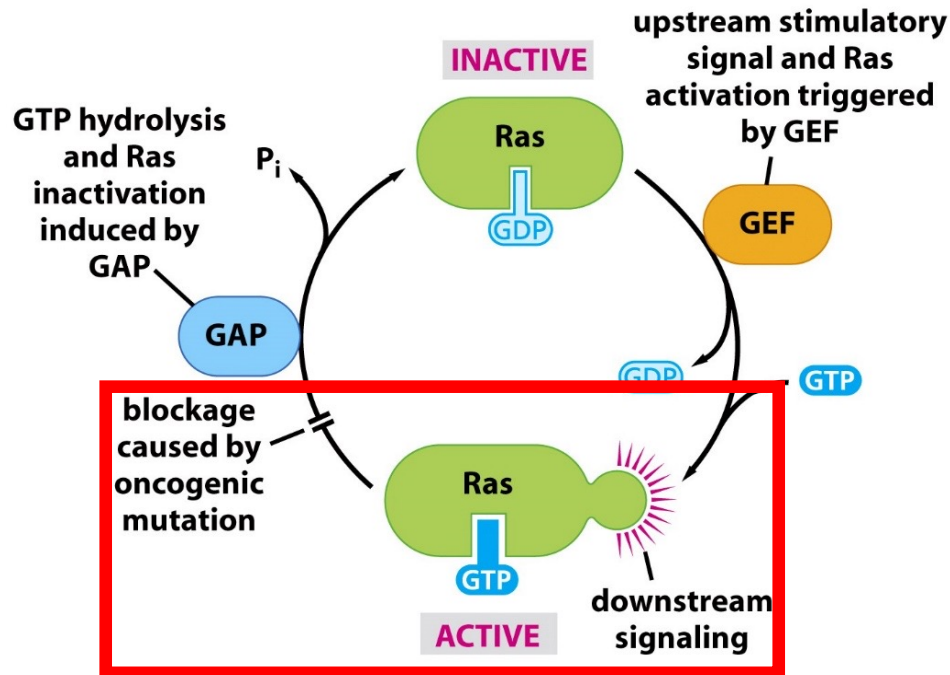
La transfection d'ADN comme stratégie pour découvrir des oncogènes non viraux



Exemple: mutation ponctuelle du gène H-Ras

met thr glu tyr lys leu val val val gly ala GGC gly val gly lys ser ala leu thr
ATG ACG GAA TAT AAG CTG GTG GTG GTG GGC GCC GTC GGT GTG GGC AAG AGT GCG CTG ACC
val oncogene splice
ile gln leu ile gln asn his phe val asp glu tyr asp pro thr ile glu
ATC CAG CTG ATC CAG AAC CAT TTT GTG GAC GAA TAC GAC CCC ACT ATA GAG GTGAGCCTGC

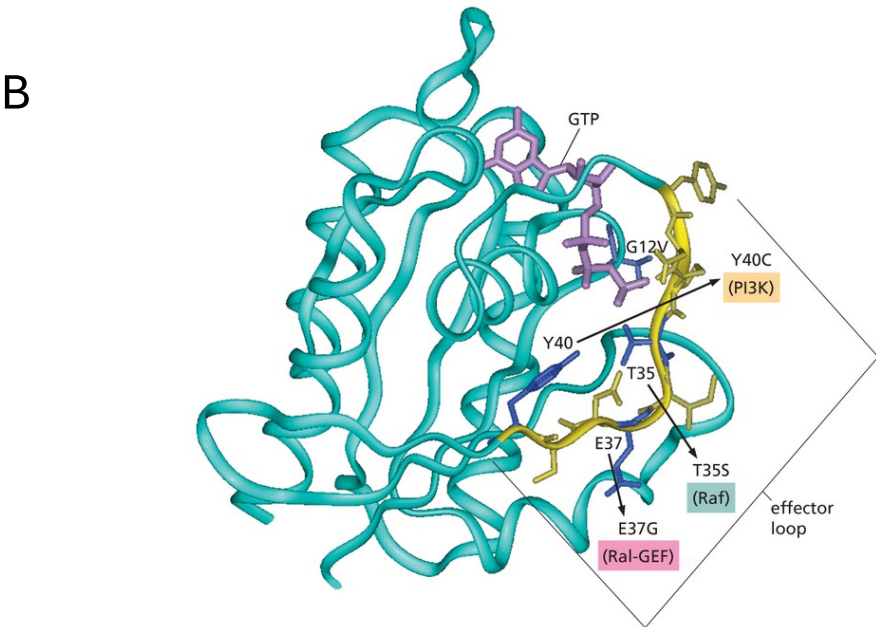
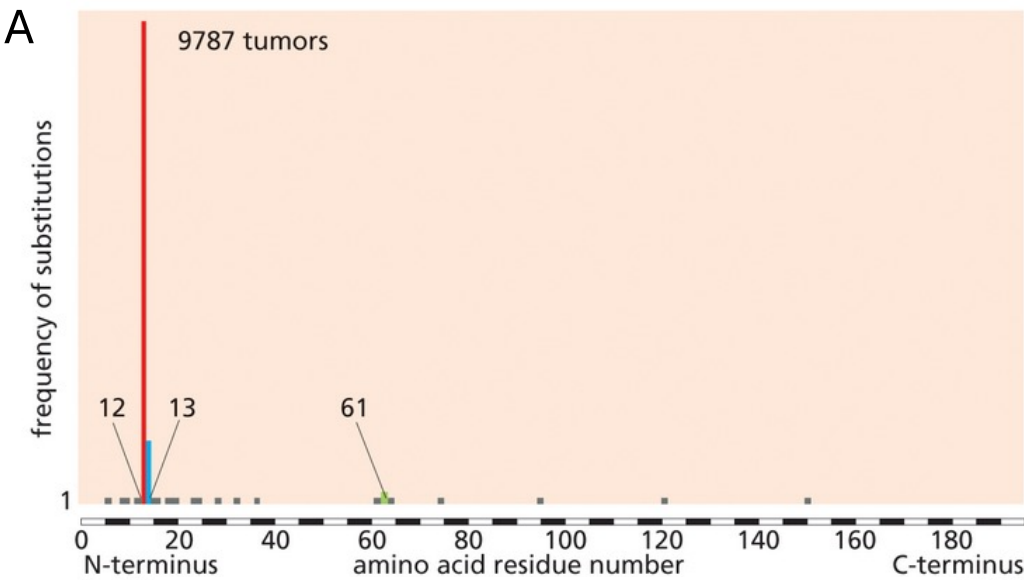
Liaison constitutive au GTP



Activation permanente de 3 voies de signalisation

- MAP Kinases
- PI3K/Akt
- Ral

Des mutations des gènes K/N/H-Ras sont identifiées dans 20 à 30% des cancers



C

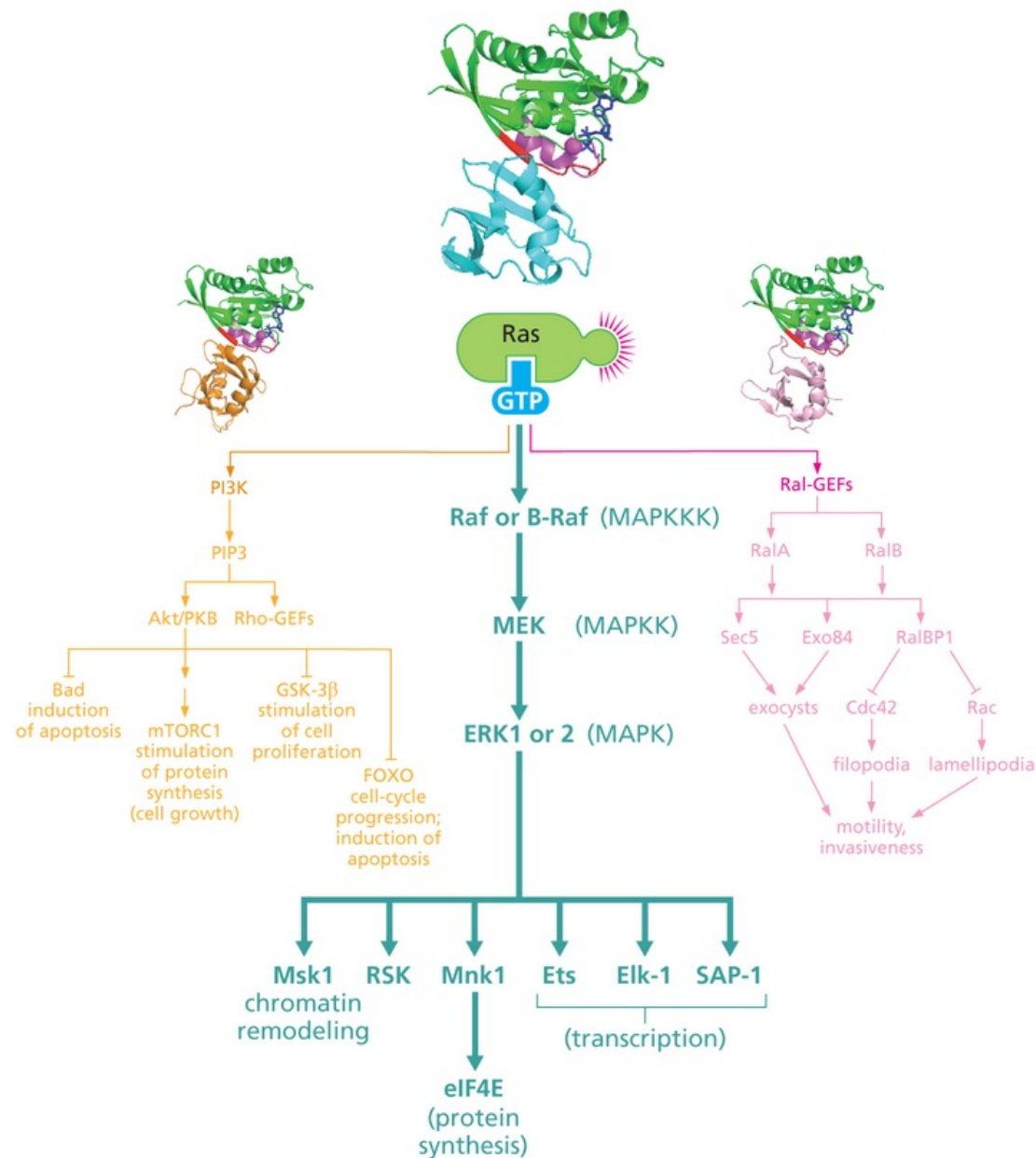
Table 4.2 A list of point-mutated *ras* oncogenes carried by a variety of human tumor cells

Tumor type	Proportion (%) of tumors carrying a point-mutated <i>ras</i> gene ^a
Pancreas	98 (K)
Thyroid (papillary)	60 (H, K, N)
Thyroid (follicular)	55 (H, K, N)
Colorectal	52 (K, N)
Seminoma	45 (K, N)
Myeloma	43 (N, K)
Lung (non-small-cell)	32 (K)
Melanoma	30 (N)
Uterine endometrioid	25 (H, K, N)
Acute myelogenous leukemia	11 (N)
Bladder	10 (H, K, N)

Adapted from J. Downward, *Nat. Rev. Cancer* 3:11–22, 2003; N. Vasan et al., *Clin. Cancer Res.* 20:3921–3930; and A.D. Cox et al., *Nat. Rev. Drug Discov.* 13, 828–851.

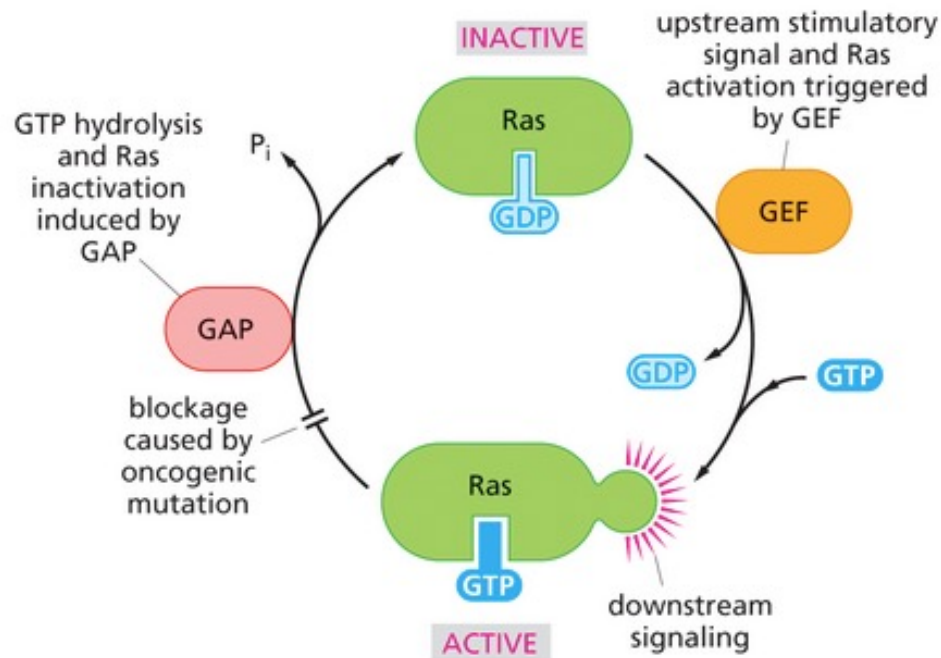
Une étude sur 40 000 génomes de tumeurs humaines a révélé des mutations activatrices des gènes K-Ras, N-ras et H-Ras dans respectivement 22%, 8.2% et 3.7%

Les voies de signalisation régulées par



Cycle d'activation des protéines Ras

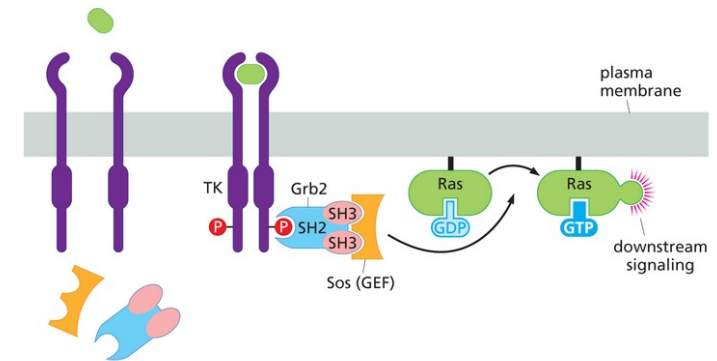
A/ Le cycle d'activation des protéines Ras



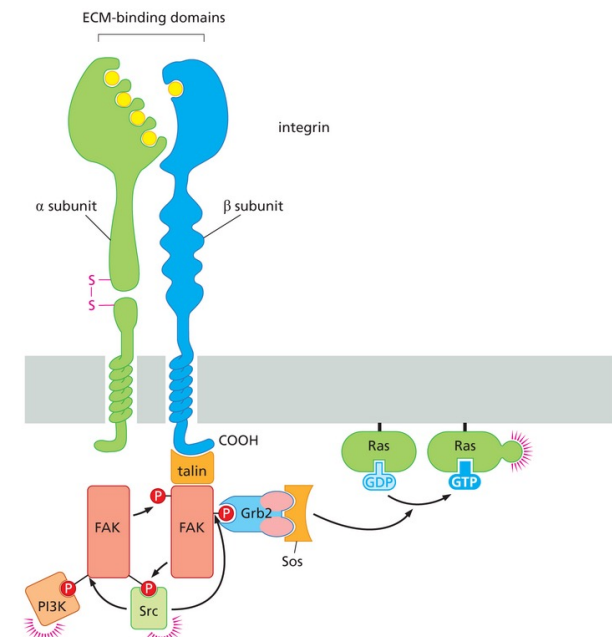
GAP: GTPase Activating Protein

GEF : Guanine nucleotide Exchange Factor

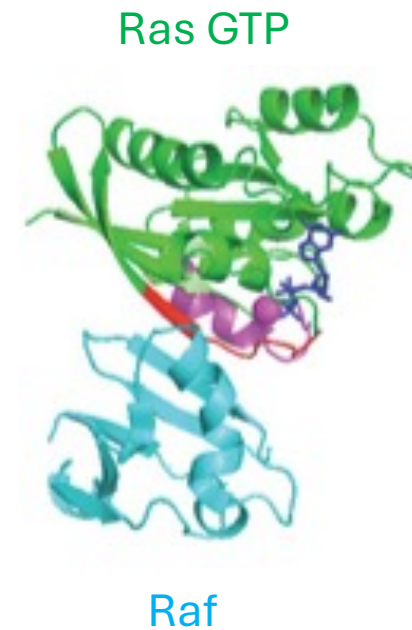
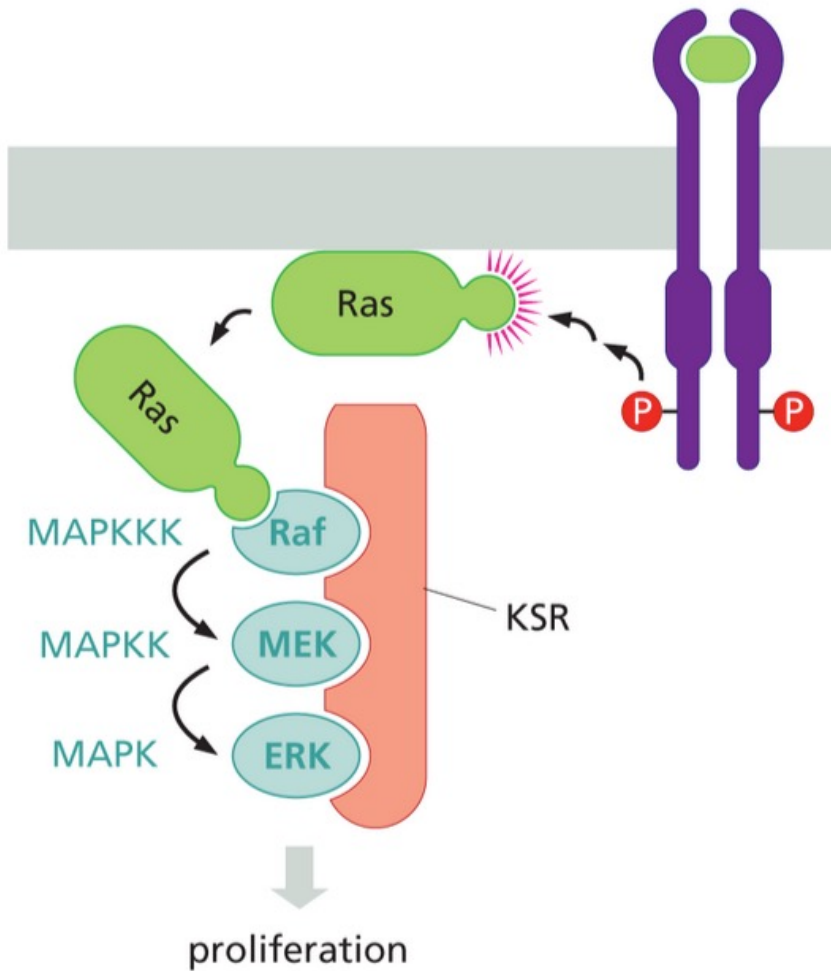
B/ Activation des Ras via les récepteurs à activité Tyrosine Kinase (ex EGFR)



C/ Activation de Ras via les intégrines



La voie de signalisation des « Mitogen Activated Protein Kinases » (MAPK)



MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase

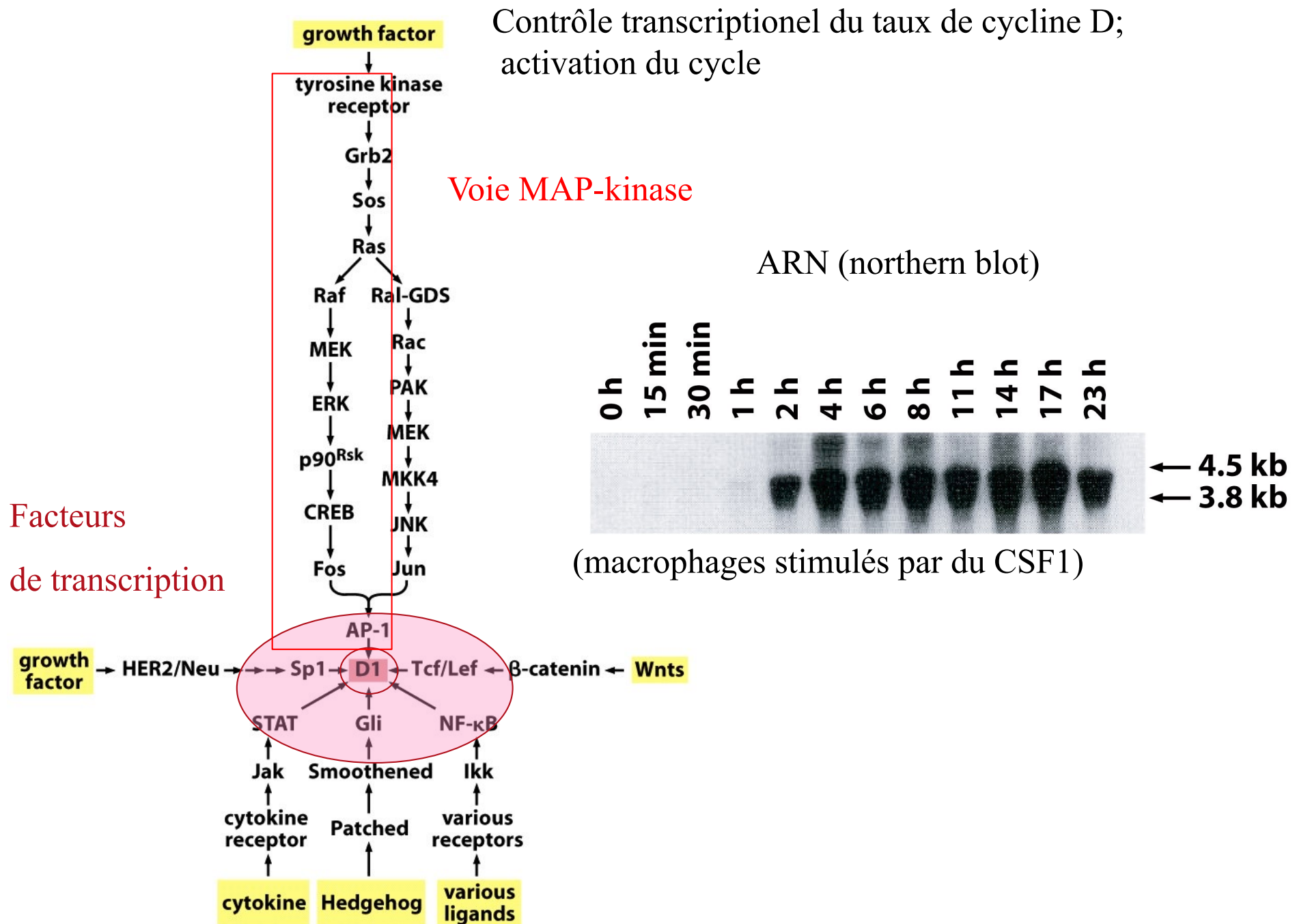
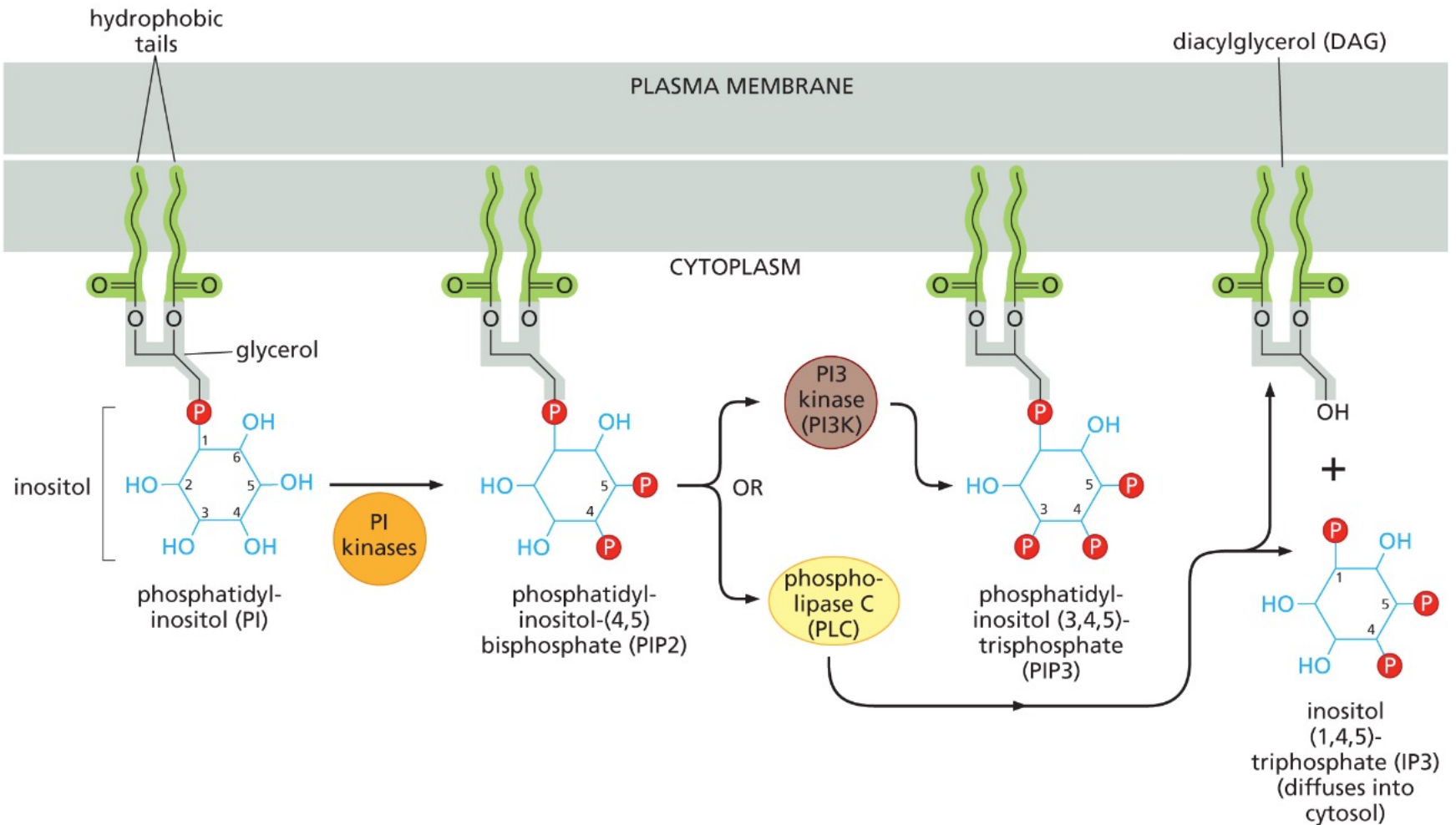
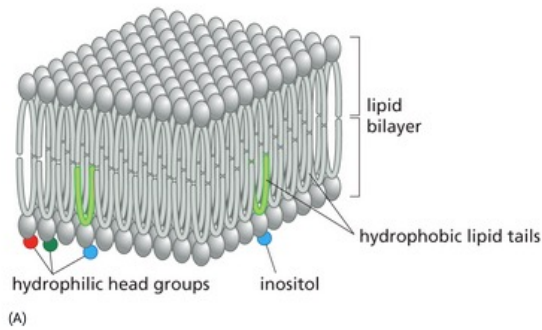
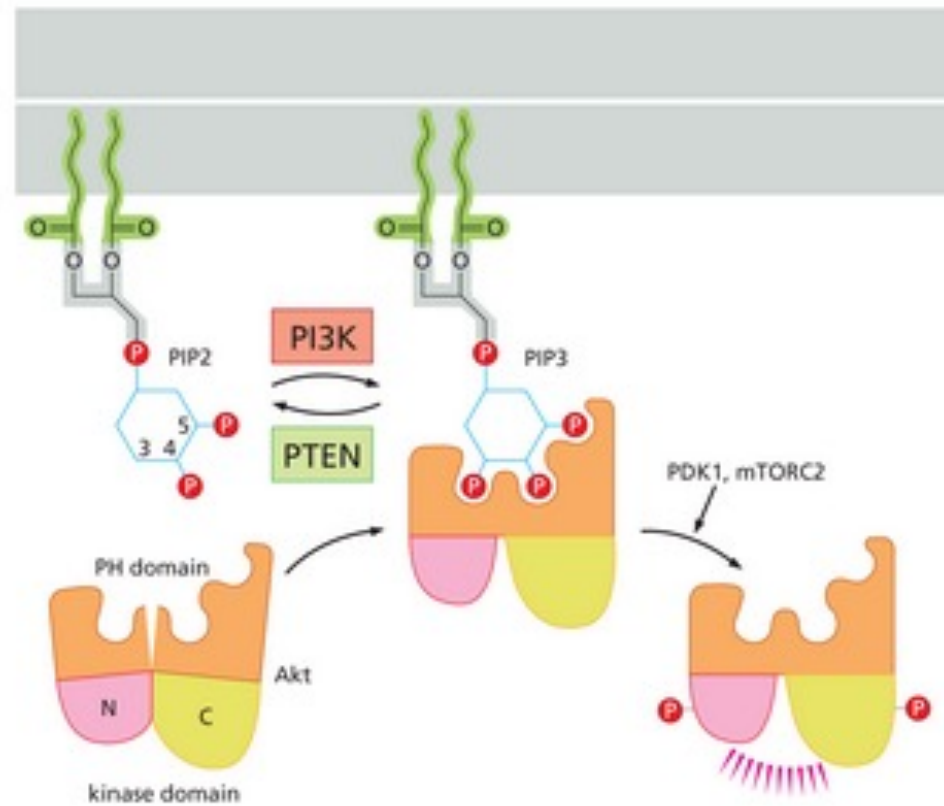


Figure 8.11b *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Voies de signalisation dépendantes des phosphatidyl-inositols

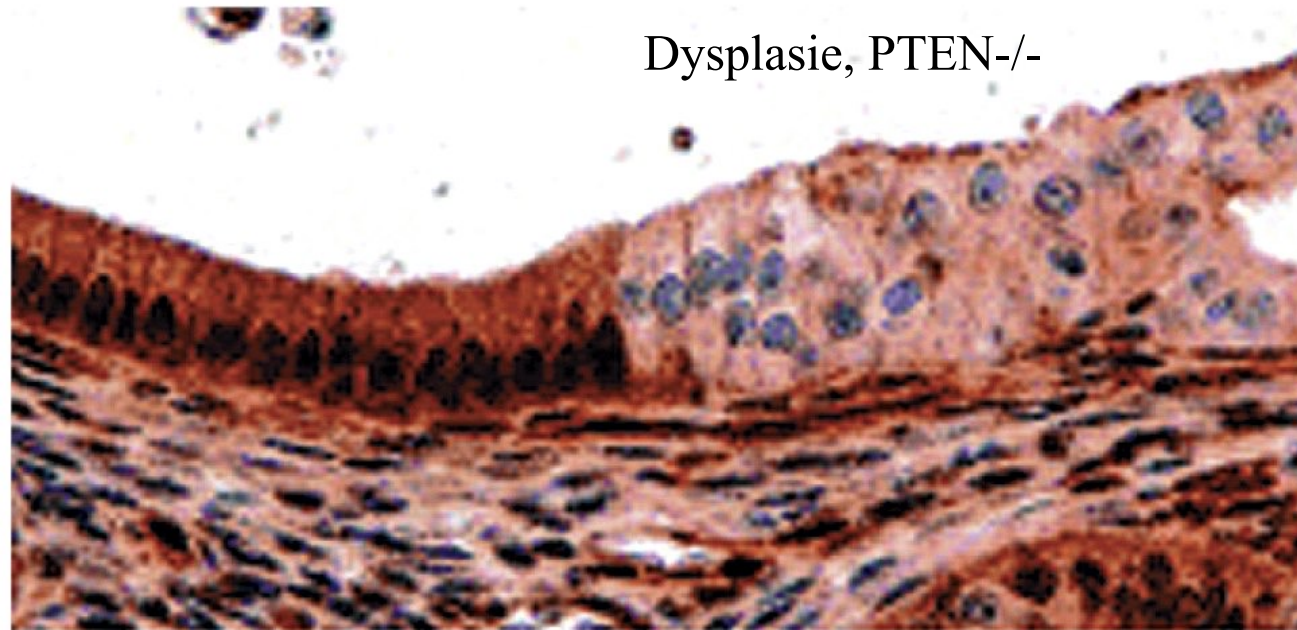


PIP3 et activation de la kinase AKT

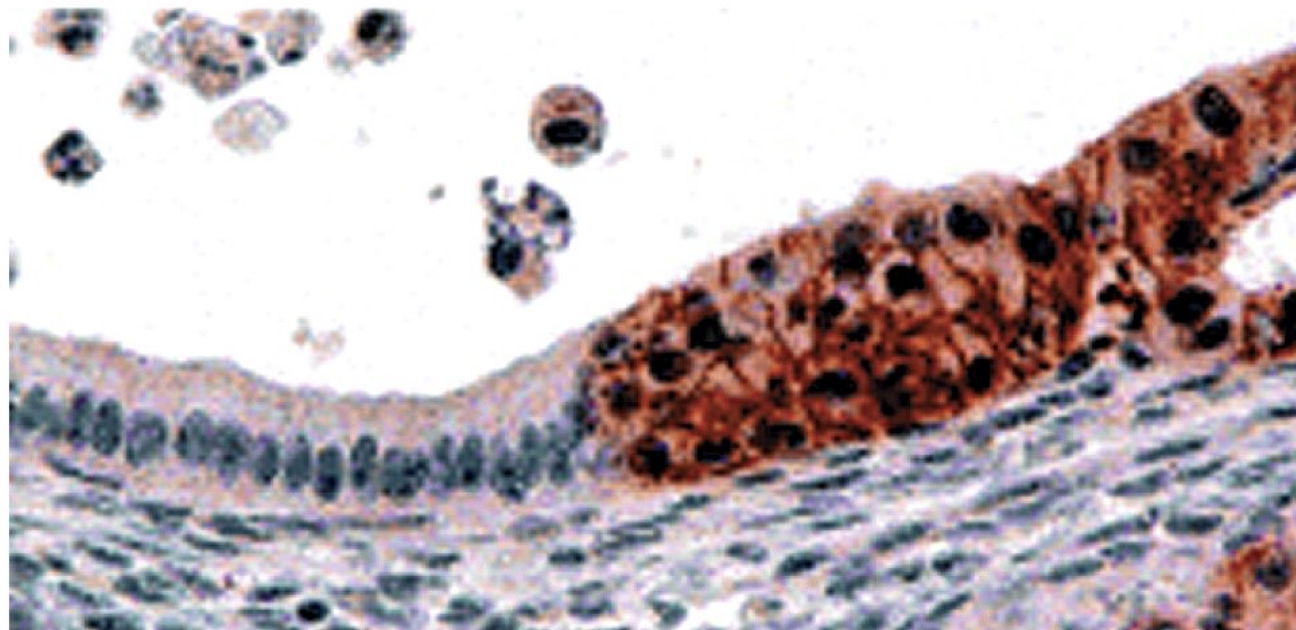


(A)

Epithélium utérin de souris PTEN+/-



Anti
PTEN



Anti
Phospho
AKT

Table 6.3 Effects of Akt/PKB on survival, proliferation, and cell growth^a

Biological effect	Substrate of Akt/PKB	Description	Functional consequence
Anti-apoptotic			
	Bad (pro-apoptotic)	Bcl-X antagonist; like Bad, belongs to Bcl-2 protein family controlling mitochondrial membrane pores (Section 9.13).	inhibition
	caspase-9 (pro-apoptotic)	Component of the protease cascade that affects the apoptotic program (Section 9.13).	inhibition
	I κ B kinase, abbreviated IKK (anti-apoptotic)	Activated by Akt/PKB phosphorylation (Section 6.12).	activation
	FOXO1 TF, formerly called FKHR TF (pro-apoptotic)	Phosphorylation prevents its nuclear translocation and activation of pro-apoptotic genes.	inhibition
	Mdm2 (anti-apoptotic)	Activated via phosphorylation by Akt/PKB; it triggers destruction of p53 (Section 9.8).	activation
Proliferative			
	GSK-3 β (anti-proliferative)	Phosphorylates β -catenin, cyclin D1, and Myc (Sections 7.10, 8.3, 8.9), causing their degradation; inactivated via phosphorylation by Akt/PKB.	inhibition
	FOXO4, formerly called AFX (anti-proliferative)	Induces expression of the CDK inhibitor p27 ^{Kip1} (Section 8.4) gene and some pro-apoptotic genes; exported from the nucleus when phosphorylated by Akt/PKB.	inhibition
	p21 ^{Cip1} (anti-proliferative)	CDK inhibitor, like p27 ^{Kip1} (Section 8.4). Exits the nucleus upon phosphorylation by Akt/PKB.	inhibition
Growth			
	Tsc2 (anti-growth)	Phosphorylation by Akt/PKB causes Tsc1/Tsc2 complex to dissociate, allowing activation of mTOR, which then up-regulates protein synthesis.	inhibition
Metabolism			
	GSK-3 β	glycogen formation	activation
	ATP citrate lyase	fatty acid synthesis	activation
	mTOR	activator of glycolysis	activation
	GLUT4	glucose transporter	activation

Table 6.4 Alteration of the PI3K pathway in human tumors^a

Cancer type	<i>Akt/PKB</i> hyperactive	<i>PIKC3A</i> hyperactive ^b	<i>p85α</i> ^c	<i>PTEN</i> -mutant or repressed ^d
Glioblastoma		6–27%	8%	20%
Ovarian carcinoma	~2%	4–12%	4%	8%
Endometrial carcinoma		22%		42–54%
HeHepatocellular carcinoma		6–36%		5%
Melanoma	~80%	~9%		40–50%
Lung carcinoma		3–4%		9%
Renal cell carcinoma		3%		4%
Thyroid carcinoma		5%		5%
Lymphoid		3%		8%
Prostate carcinoma		2%		10%
Colon carcinoma	~6%	14–32%	2–8%	13–54%
Breast carcinoma	~8%	18–40%	2%	20–33%
Bladder		23%		8%
Pancreatic		25%	17%	
Gastric		8%		

From www.sanger.ac.uk/perl/genetics/CGP/cosmic; T.L. Yuan and L.C. Cantley, *Oncogene* 27:5497–5510; B.S. Jaiswal et al., *Cancer Cell* 16:463–474, 2009; D.W. Parsons et al., *Science* 321:1807–1812, 2008; and Y. Samuels and K. Ericson, *Curr. Opin. Oncol.* 18:77–82, 2006.

Mécanismes principaux d'activation des oncogènes

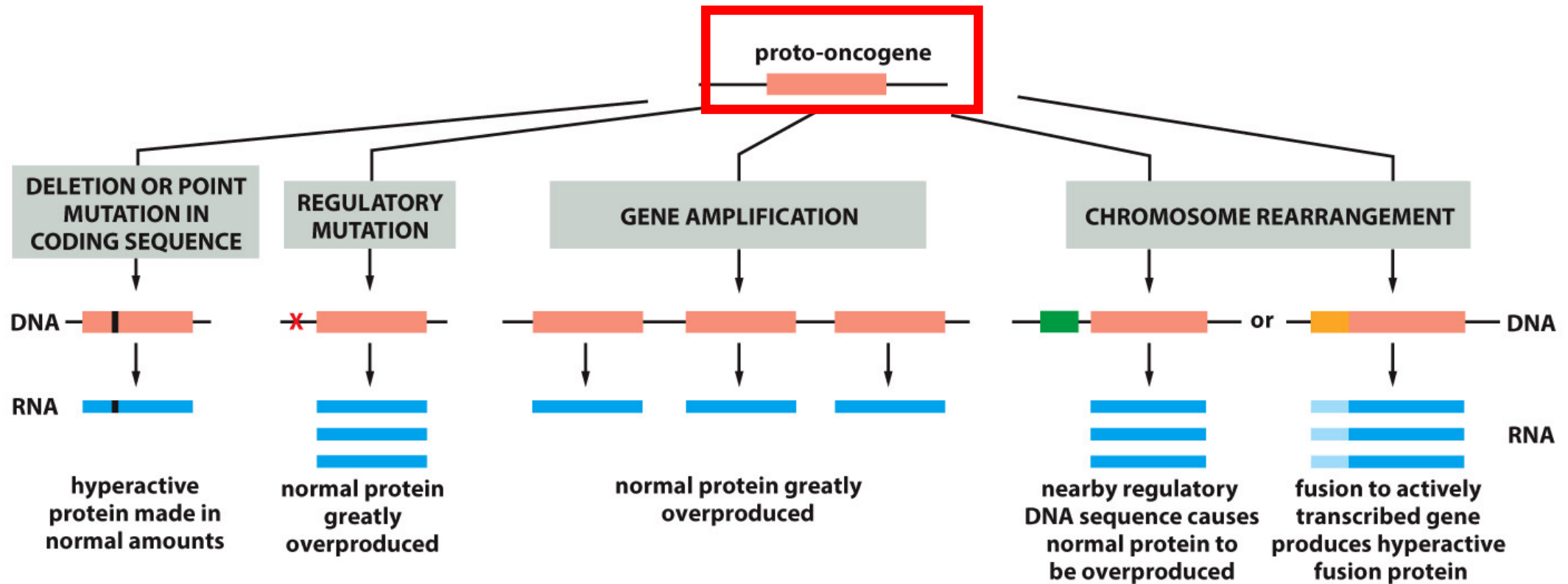


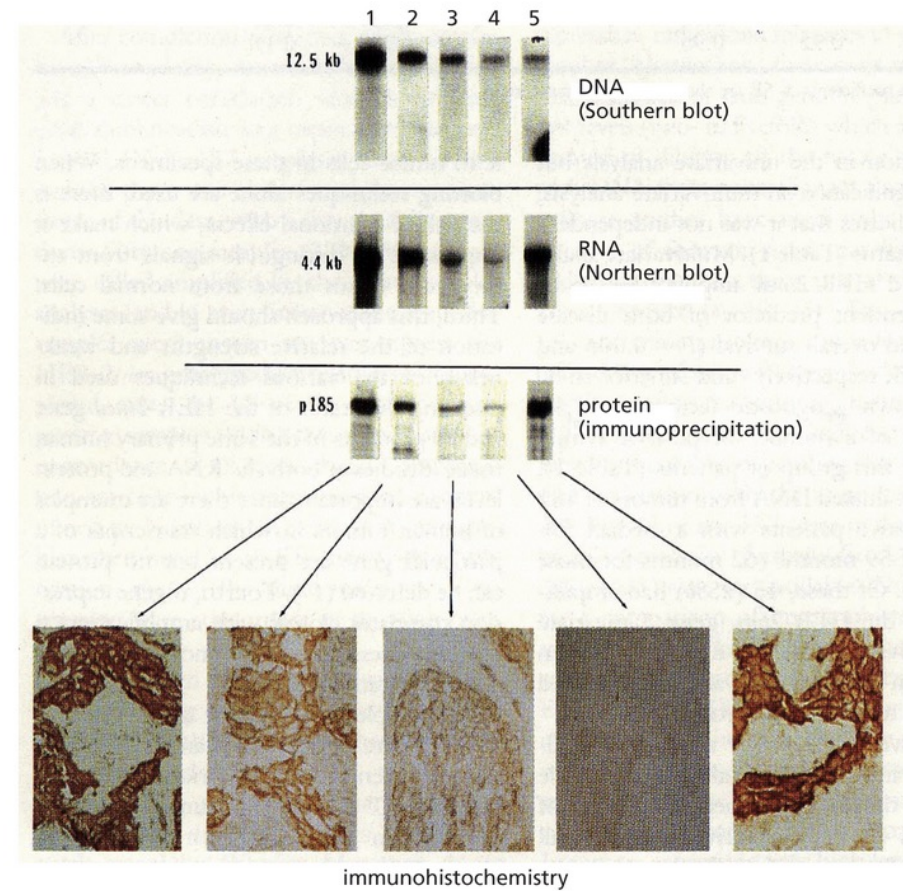
Figure 20-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Table 4.3 Some frequently amplified chromosomal regions and the genes they are known to carry

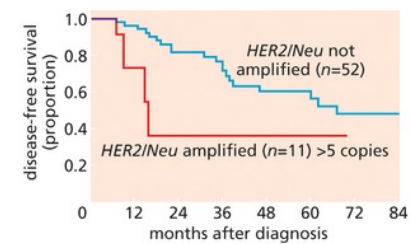
Name of oncogene ^a	Human chromosomal location	Human cancers	Nature of protein ^b
<i>MDM4/MDMX</i>	1q32	breast, colon, lung, pre-B leukemias	p53 inhibitor
<i>PIK3CA</i>	3q26.3	lung SCC, ovarian, breast carcinomas	PI kinase
<i>erbB1/EGFR</i>	7q12–13	glioblastomas (~30%), squamous cell carcinomas (10–20%)	RTK
<i>cab1-erbB2-grb7</i>	17q12	gastric, ovarian, breast carcinomas (10–25%)	RTK, adaptor protein
<i>k-sam</i>	7q26	gastric, breast carcinomas (10–20%)	RTK
<i>FGF-R1</i>	8p12	breast carcinomas (10%)	RTK
<i>Met</i>	7q31	gastric carcinomas (20%)	RTK
<i>k-ras</i>	12p12.1	lung, ovarian, colorectal, bladder, gastric carcinomas (5–20%)	small G protein
<i>n-ras</i>	1p13	head-and-neck cancers (30%)	small G protein
<i>h-ras</i>	11p15	colorectal carcinomas (30%)	small G protein
<i>c-myc</i>	8q24	various leukemias, carcinomas (10–50%)	TF
<i>l-myc</i>	1p32	lung carcinomas (10%)	TF
<i>n-myc-DDX1</i>	2p24–25	neuroblastomas, lung carcinomas (30%)	TF
<i>akt-1</i>	14q32–33	gastric cancers (20%)	ser/thr kinase
<i>akt-2</i>	19q13	ovarian carcinomas	ser/thr kinase
<i>cyclin D1-exp1-hst1-ems1</i>	11q13	breast, liver and squamous cell carcinomas (25–50%)	G1 cyclin
<i>cdk4-mdm2-sas-gli</i>	12q13	sarcomas (10–30%), HNSCC (40%), B-cell lymphomas (25%)	CDK, p53 antagonist
<i>cyclin E</i>	19q12	gastric cancers (15%)	cyclin
<i>akt2</i>	19q13	pancreatic, ovarian cancers (10-30%)	ser/thr kinase
<i>AIB1, BTAK</i>	20q12–13	breast cancers (15%)	receptor co-activator
<i>cdk6</i>	19q21–22	gliomas (5%)	CDK
<i>myb</i>	6q23–24	colon carcinoma (5–20%), leukemias	TF
<i>ets-1</i>	11q23	lymphoma	TF
<i>gli</i>	12q13	glioblastomas	TF

Courtesy of M. Terada, Tokyo, and adapted from G.M. Cooper, *Oncogenes*, 2nd ed., Boston and London: Jones and Bartlett, 1995; and C.M Croce, *N. Engl. J. Med.* 358:502–511, 2008.

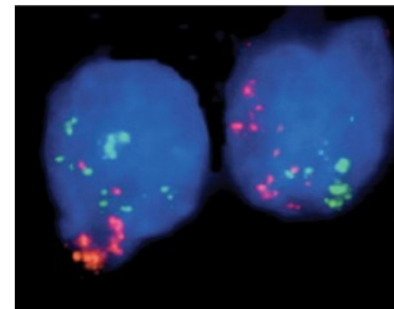
Amplification of the erbB2/HER2 (EGFR2) in breast cancers



(A)

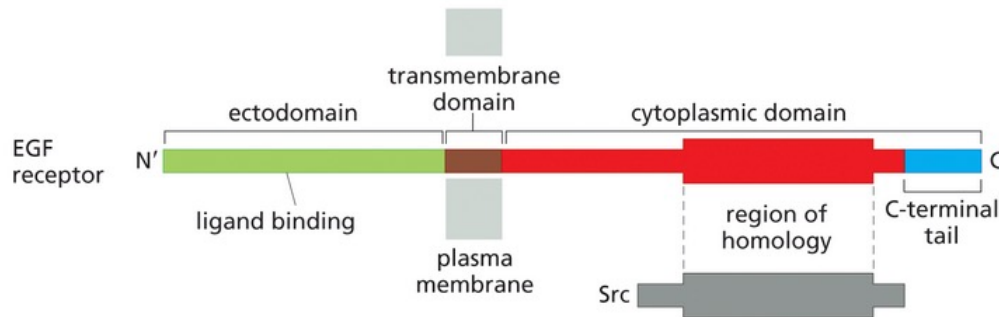


(B)



(C)

L'EGFR est un récepteur à activité tyrosine kinase



(A)

```

Src  RESLRLEAKLGGGCFGEVWMGTWNDTTR----VAIKTLKPGTMSPE--AFLQEAQVMKK
Abl  RTDITMKHKLGGGQYGEVYEGVWKYSLT---VAVKTLKEDTMEVE--EFLKEAAVMKE
Fes  HEDLVLGEQIGRGNFGEVFSGRLRADNTL---VAVKSCRETLPPDIKAKFLQEAQILKQ
ErbB ETEFKVKVVLGGGAFGTIYKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILOEAYMAS
Raf  ASEVMLSTRIGSGSFGIYVYKWKWHD-----VAVKILKVVDPTPEQLQAFRNEVAVLR
Mos  WEQVCLMHLRGSGGFGSVYKATYHGV-----VAIKQVNKCTEDLRASQRSFWAELNIA

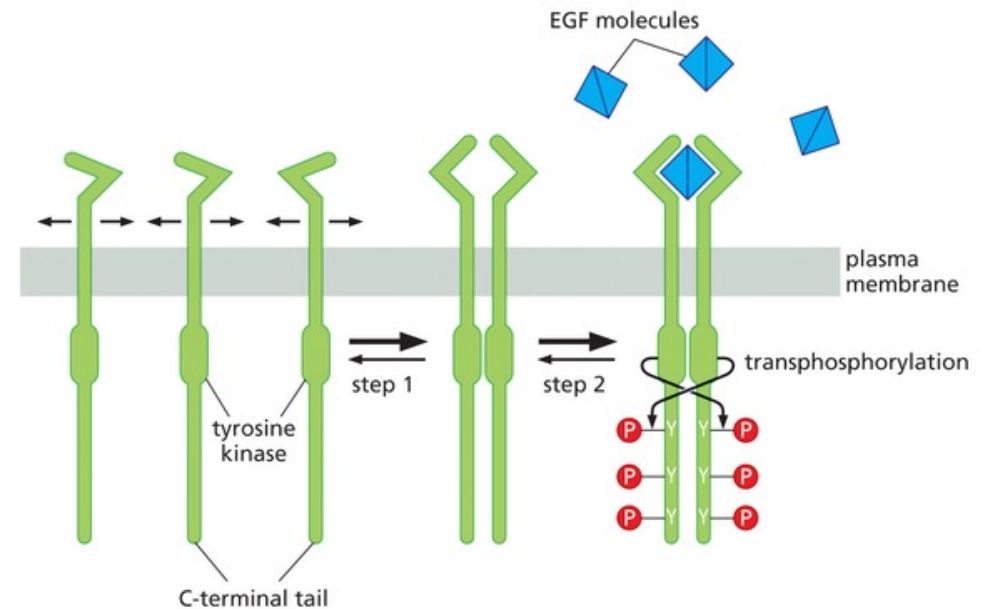
Src  LR-HEKLVQLYAVVSEEP-IYIVIEYMSK----GSLDFLKGEKMGKY-----LRLP
Abl  IK-HPNLVQLLGVCTREPPFYIITEFTY----GNLLDYLRNCRQE-----VSAV
Fes  YS-HPNIVRLIGVCTQKQPIYIVMELVQG---GDFTFLRTEGAR-----LRMK
ErbB VD-NPHVCRLLGICLTST-VQLITQLMPY----GCLLDYIREHKDN-----IGSQ
Raf  KTRHVNII--LLFMGYMTKDNLAIVTQWCEGSSLYKHLHVQETK-----FQMF
Mos  GLRHONIVRVVAASTRTPEDSNLSGTIIIEFGGNVTLHQVIYDATRSPEPLSCRKQLSLG

Src  QLVDMAAQIASGMAYVERMNYVHRDLRAANILVGENLVCKVADFGLARLIEDNEYTARQG
Abl  VLLYMATQISSAMEYLEKNFIHRDLAARNCLVGENHLVKVADFGLSRLMTGDTYTAHAG
Fes  TLLQMVGDAAAGMEYLESKCCIHRDLAARNCLVTEKNVLKISDFGMSREEADGVYAASGG
ErbB YLLNWCVQTAKGMNYLEERRLVHRDLAARNLVKTPQHVKITDFGLAKLLGADKEYHAE
Raf  QLIDIAAQTAQGMAYLHAKNIIHRDMKSNNLFLHEGLTVKIGDFGLATVKSRSWGSQQVE
Mos  KCLKYSLDVVNGLLFLHSQSILHLDLKPANILISEQDVCKISDFGCSQKLQDLGRQASP

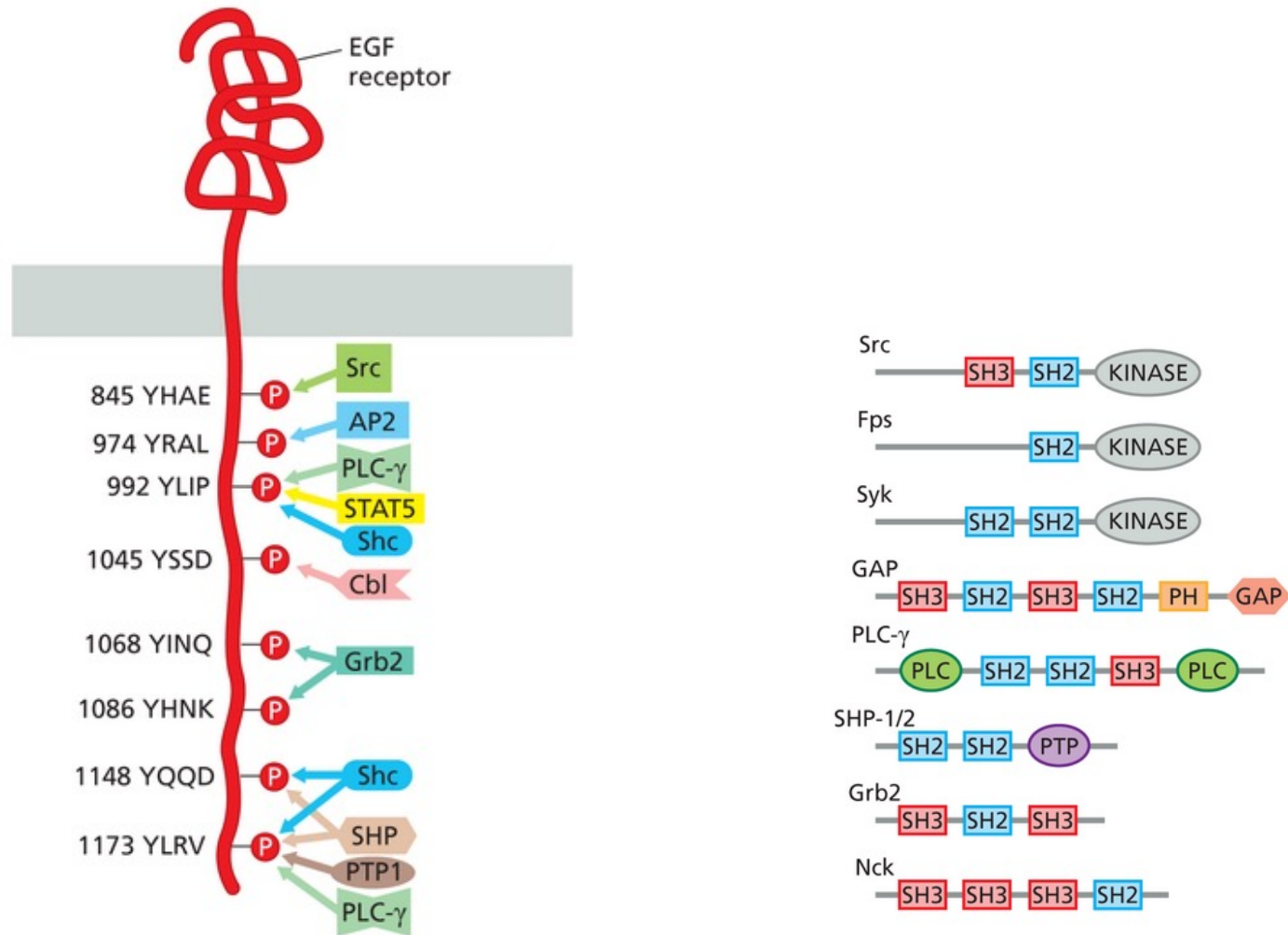
Src  AKF--PIKWTAPAEALYGR---FTIKSDVWSFGILLTELTKGRVPYPMVNREVLDOVE
Abl  AKF--PIKWTAPESLAYNK---FSIKSDVWAFGVLLWEIATYGMSPYPGIDLSQVYELLE
Fes  LRLV-PVKWTAPAEALNYGR---YSSSDVWSFGILLWETFSLGASPPYPLNSQQTREFVE
ErbB GGVV-PIKWMALLESILHRI---YTHQSDVWSYGVTVWELMTFGSKPYDGIPASEISSVLE
Raf  OPTG-SVLWMAPEVIRMQDDNPFSFQSDVYSYGIVLYELMA-GELPYAHINNRDQIIFMV
Mos  PHIGGTYTHQAPEILKGEI---ATPKADIYSFGITLWQMTT-REVPYSGEPQYVQYAVVA

Src  R--GYRMPCPPECPESLHD---LMCQWRKDPEERPTFKYLGAAQLLPA
Abl  K--DYRMERPEGCEPKVYE---LMRACQWNPSPDRPSFAEIHQAFETM
Fes  K--GGRLPCELCDAVFR---LMEQCWAYEPGQRPSFAFYQELQSI
ErbB K--GERLPQPPICITIDVYM---IMVKCWMIDADSRPKFERELIAEFSKM
Raf  GR-GYASPDLSRLYKNCPPKAIKRLVADCVKVKKEERPLFPQILSSIALL
Mos  YNLRPSLAGAVFTASLTGKALQNIQSCWEARGLQRPSAELLGRDLKAF
    
```

(B)



L'autophosphorylation de l'EGFR permet le recrutement de protéines transductrices du signal



Pontages intermoléculaires par Grb2 et Shc

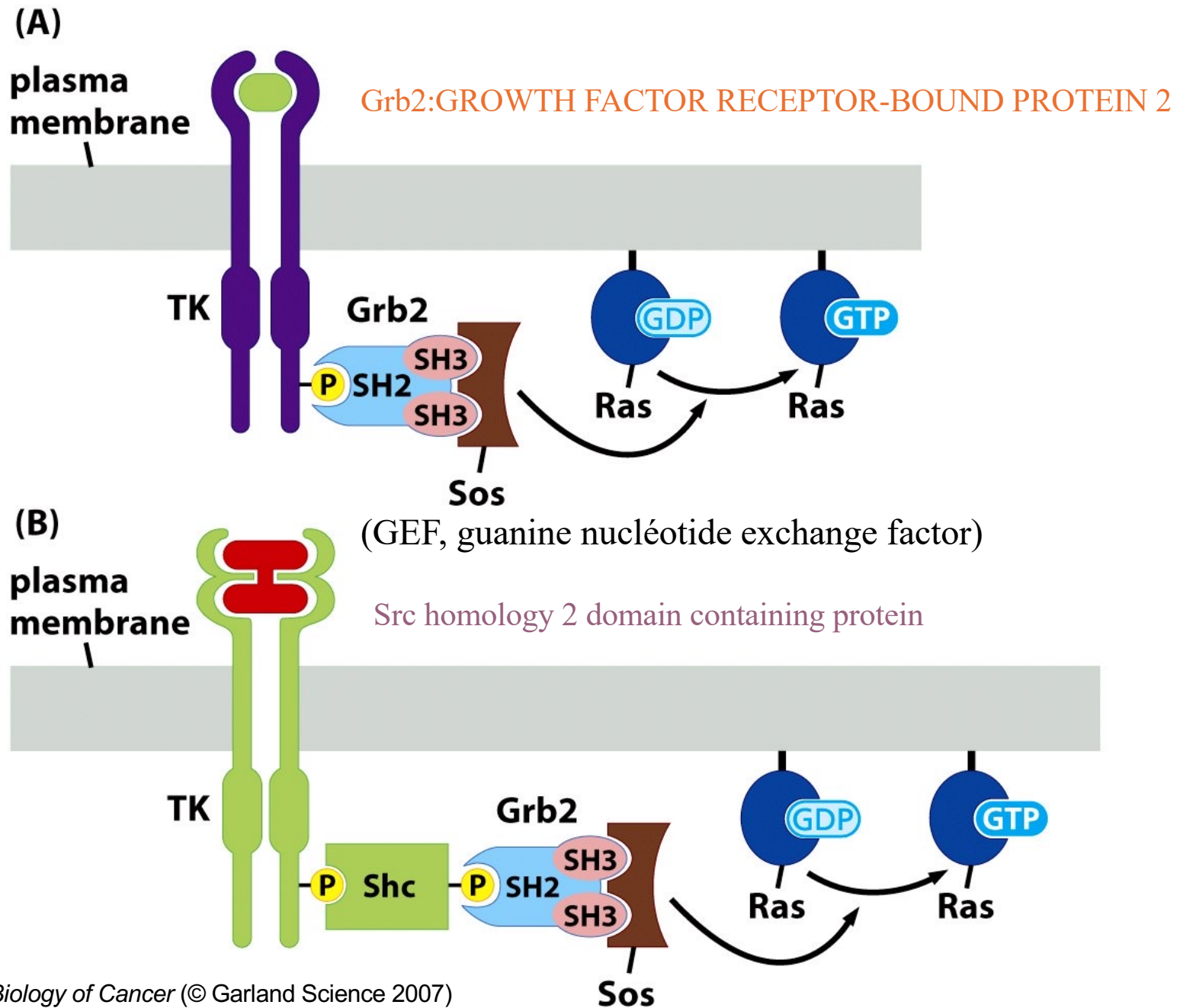
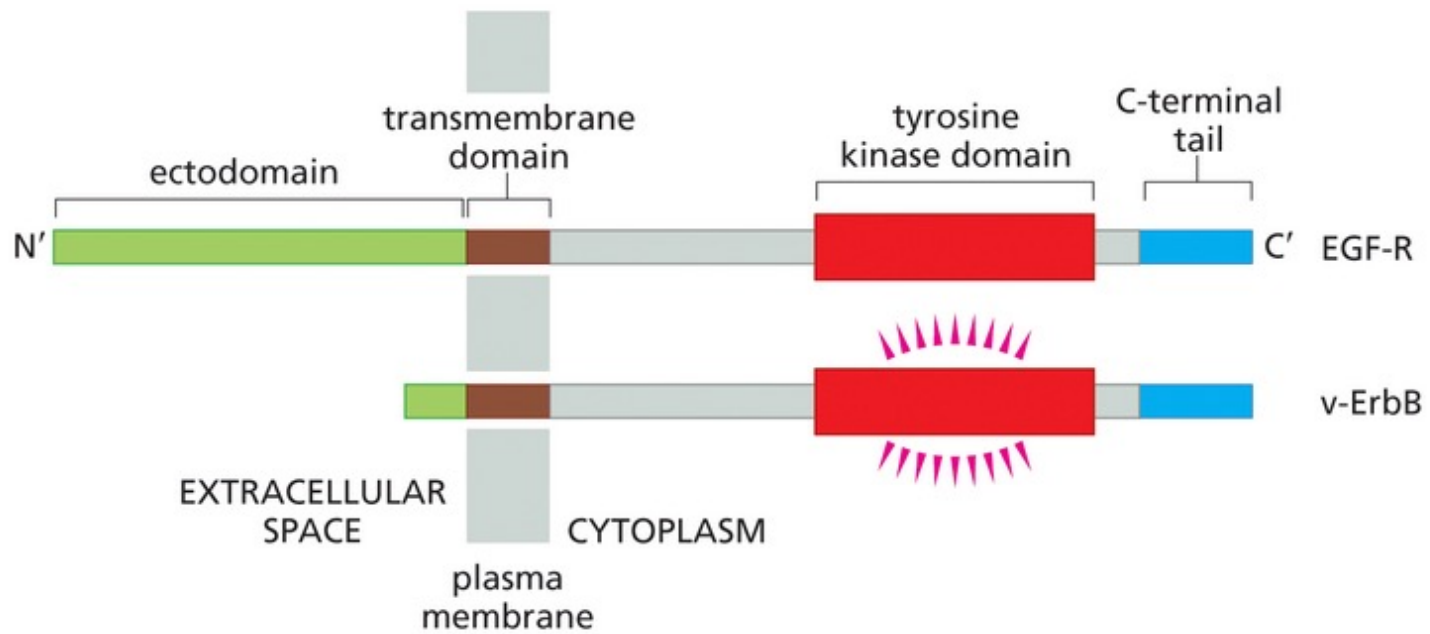


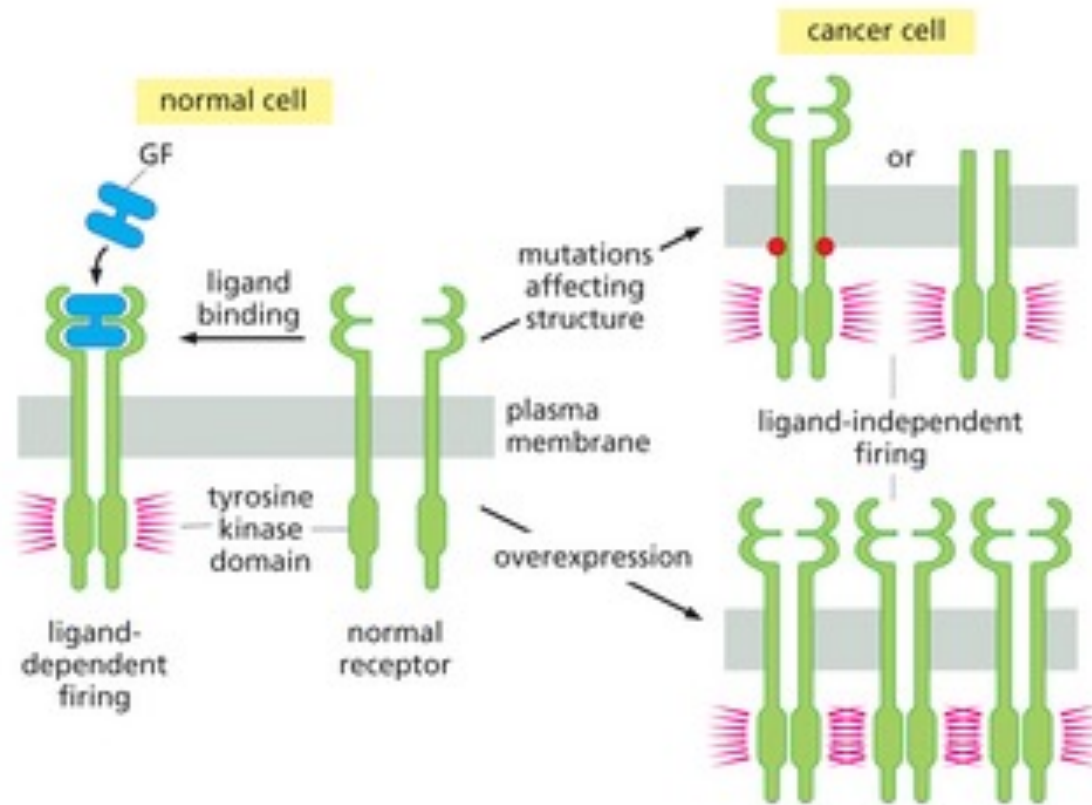
Figure 6.12 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

L'EGFR et l'oncogène v-ErbB du rétrovirus aviaire de l'érythroblastose sont étroitement apparentés

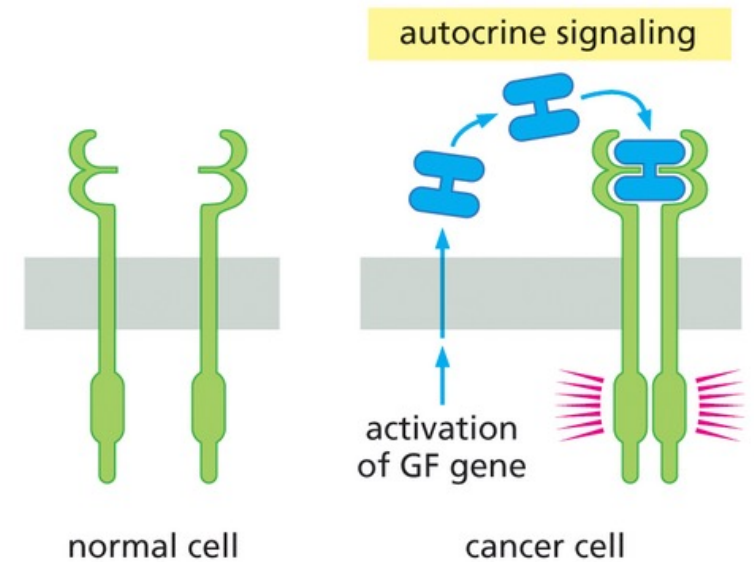


Mode d'activation des récepteurs aux facteurs de croissance dans les cancers

A

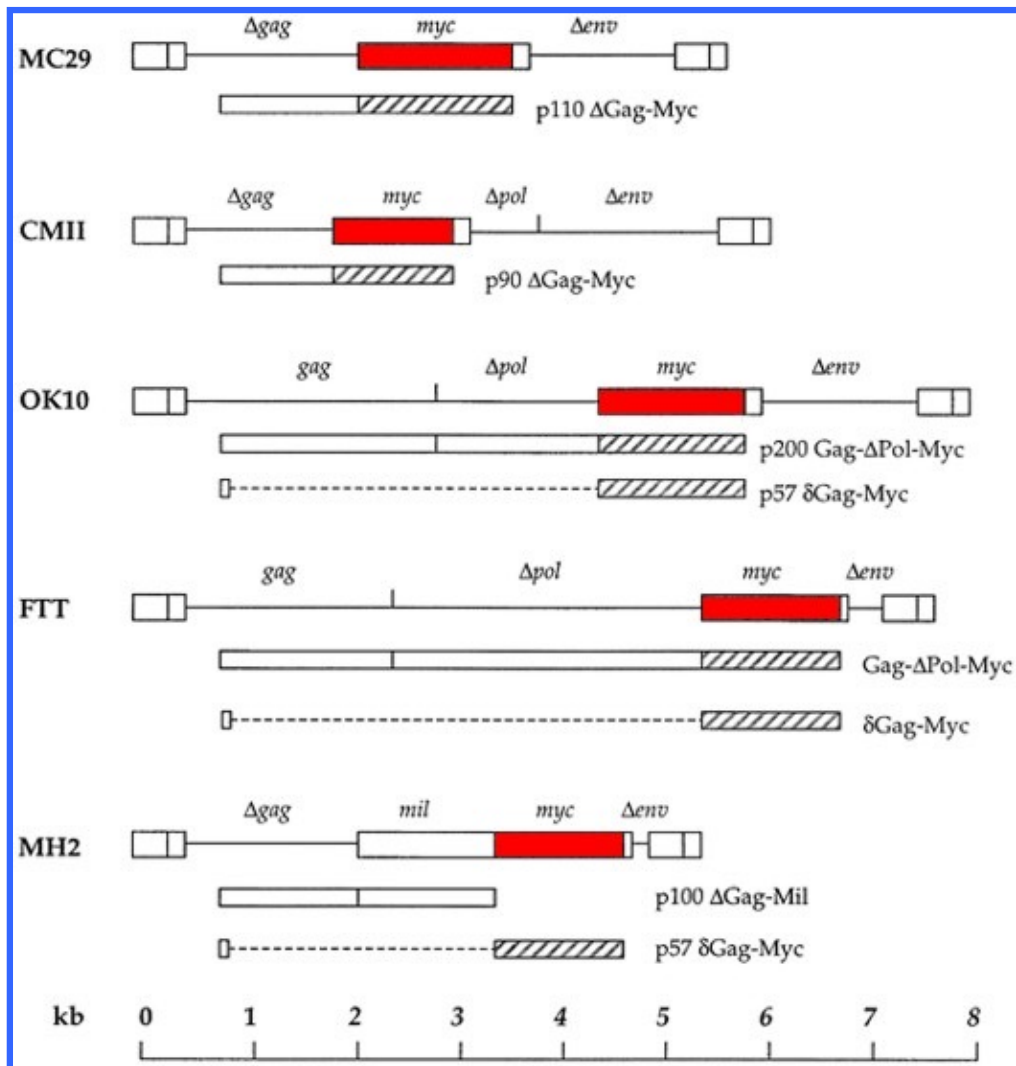


B



The c-Myc oncogene

Myc Oncoretroviruses

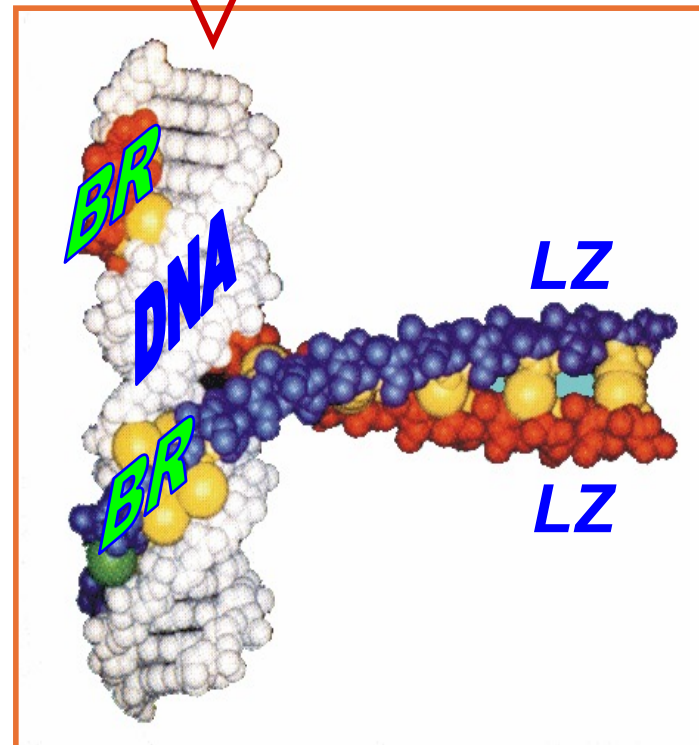
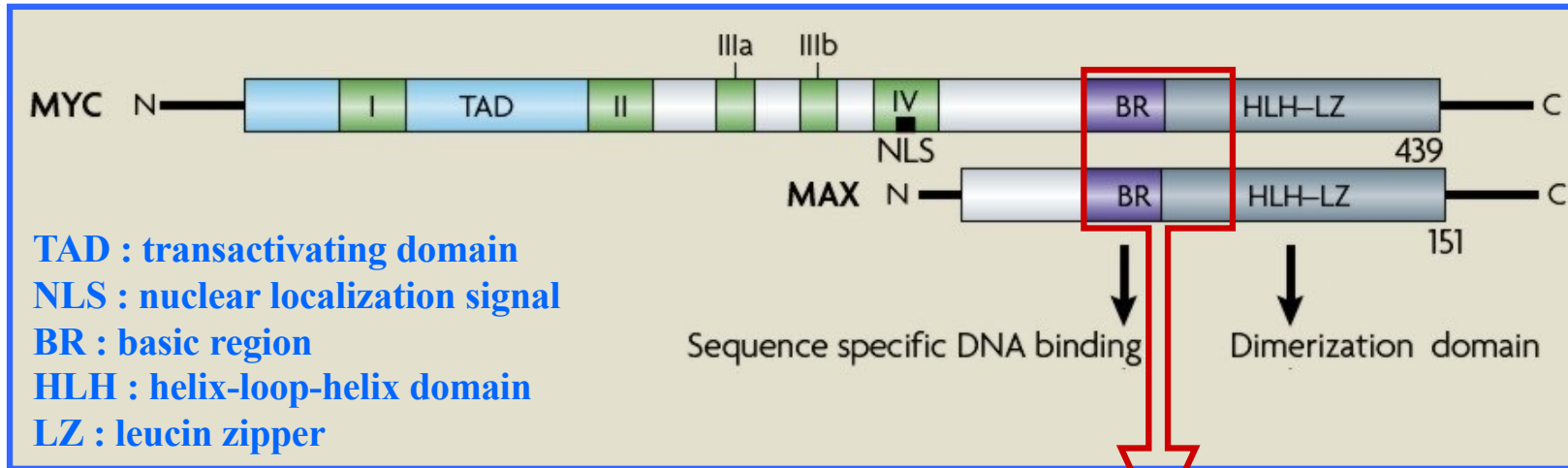


proto-oncogene

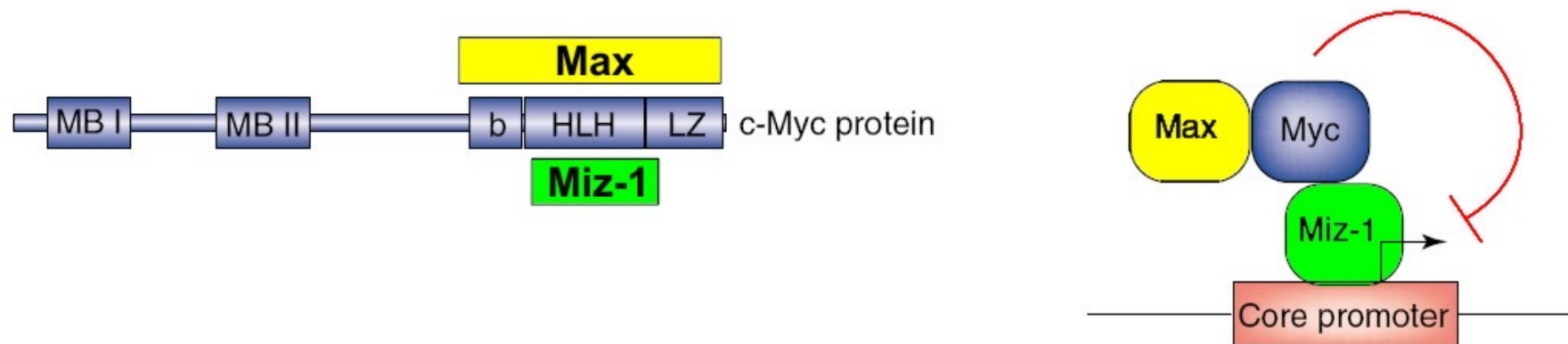
Pathogenicity of Myc retroviruses

Virus	Host	Country and year of isolation	Neoplasm induced
MC29	avian	Bulgaria, 1964	myelocytomatosis, endothelioma, sarcoma, liver/kidney carcinoma
CMII	avian	Germany, 1964	myelocytomatosis
OK10	avian	Finland, 1975	carcinomas
FTT	feline	USA, 1969	T-cell lymphoma
MH2	avian	UK, 1927	monocytic leukemia, liver/kidney carcinoma, thymus lymphoma, sarcoma

c-Myc main function: A Transcriptional activator

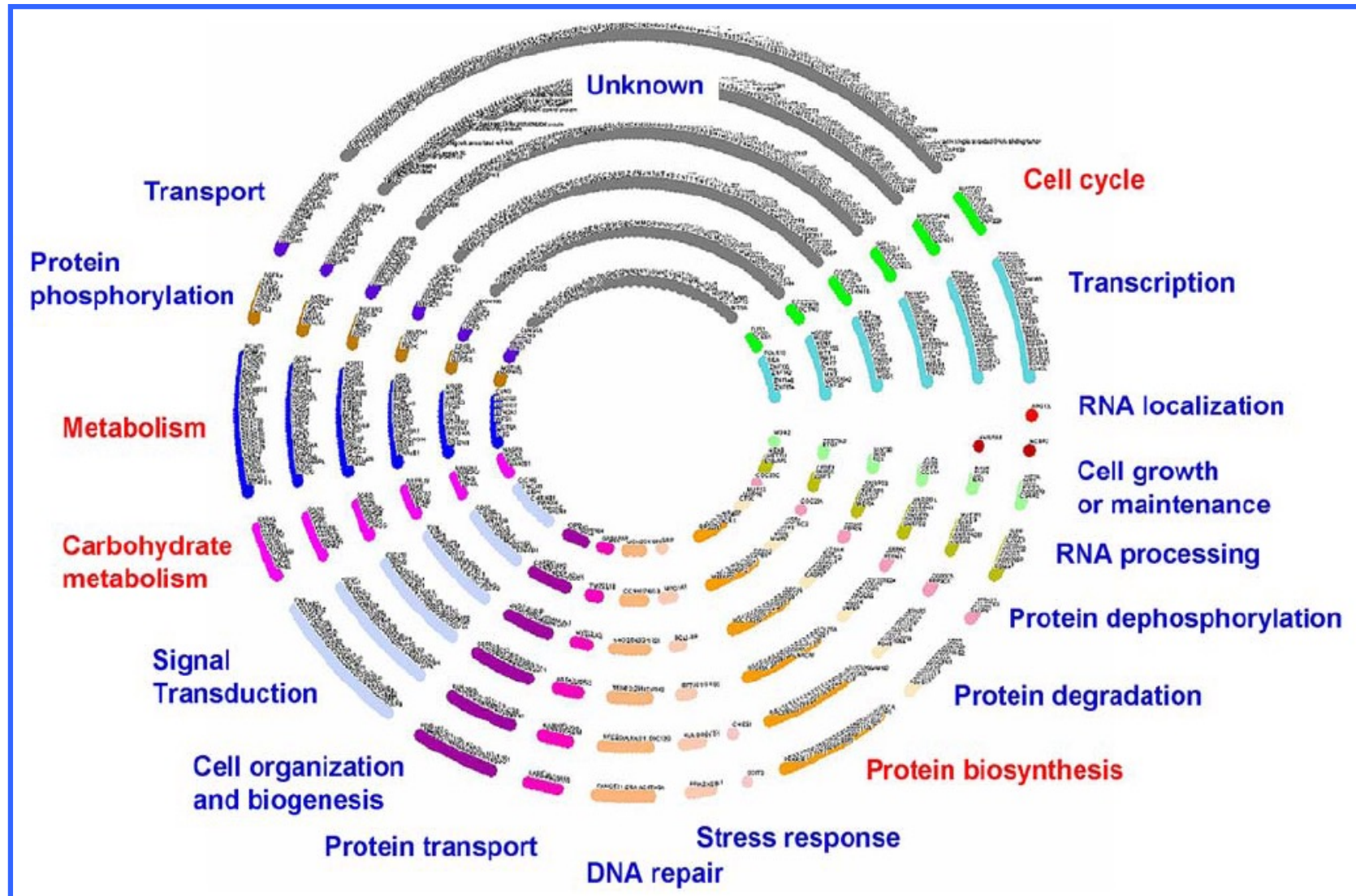


In association with Miz1, c-Myc can also act as a repressor

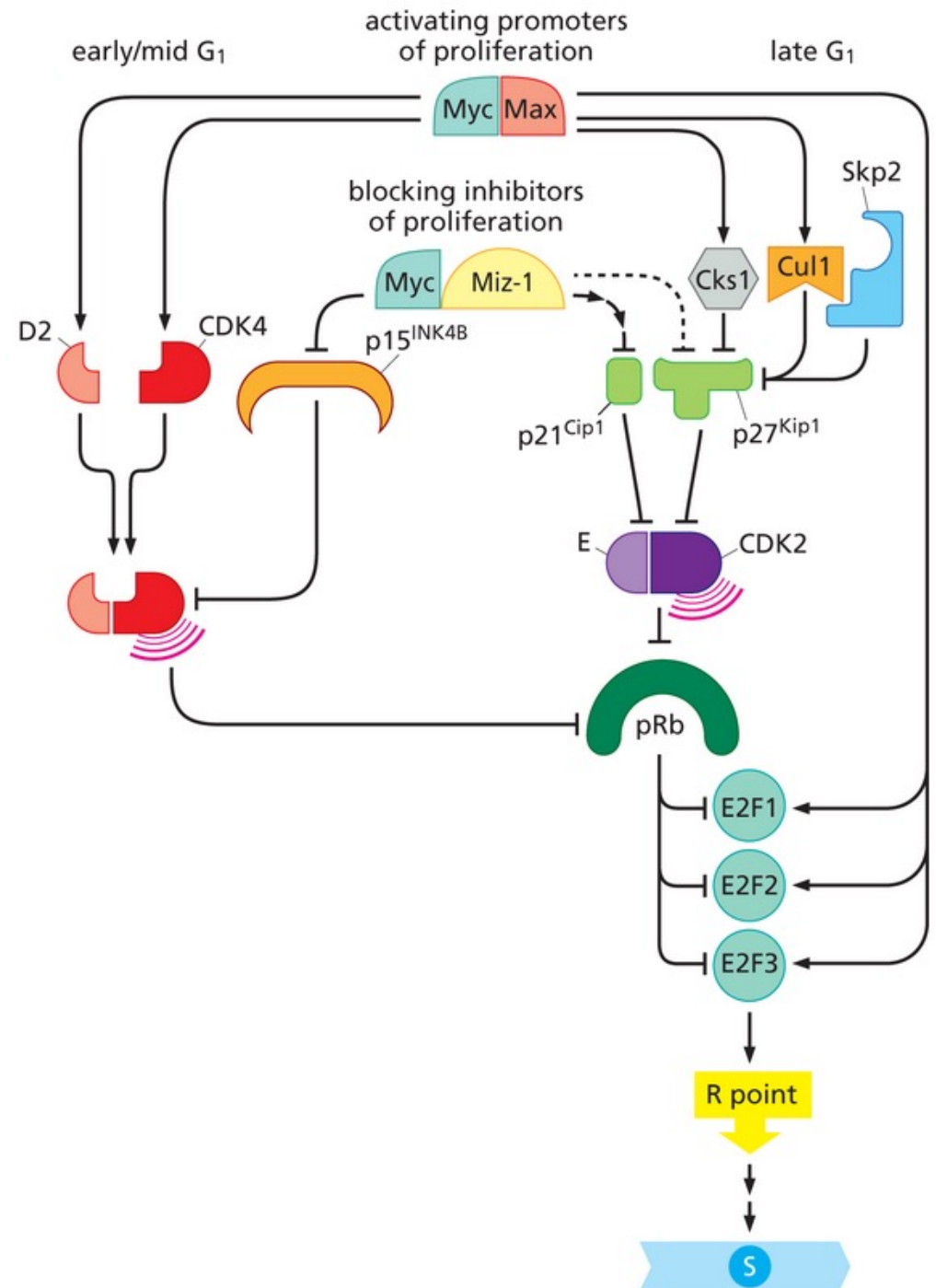


c-Myc target genes

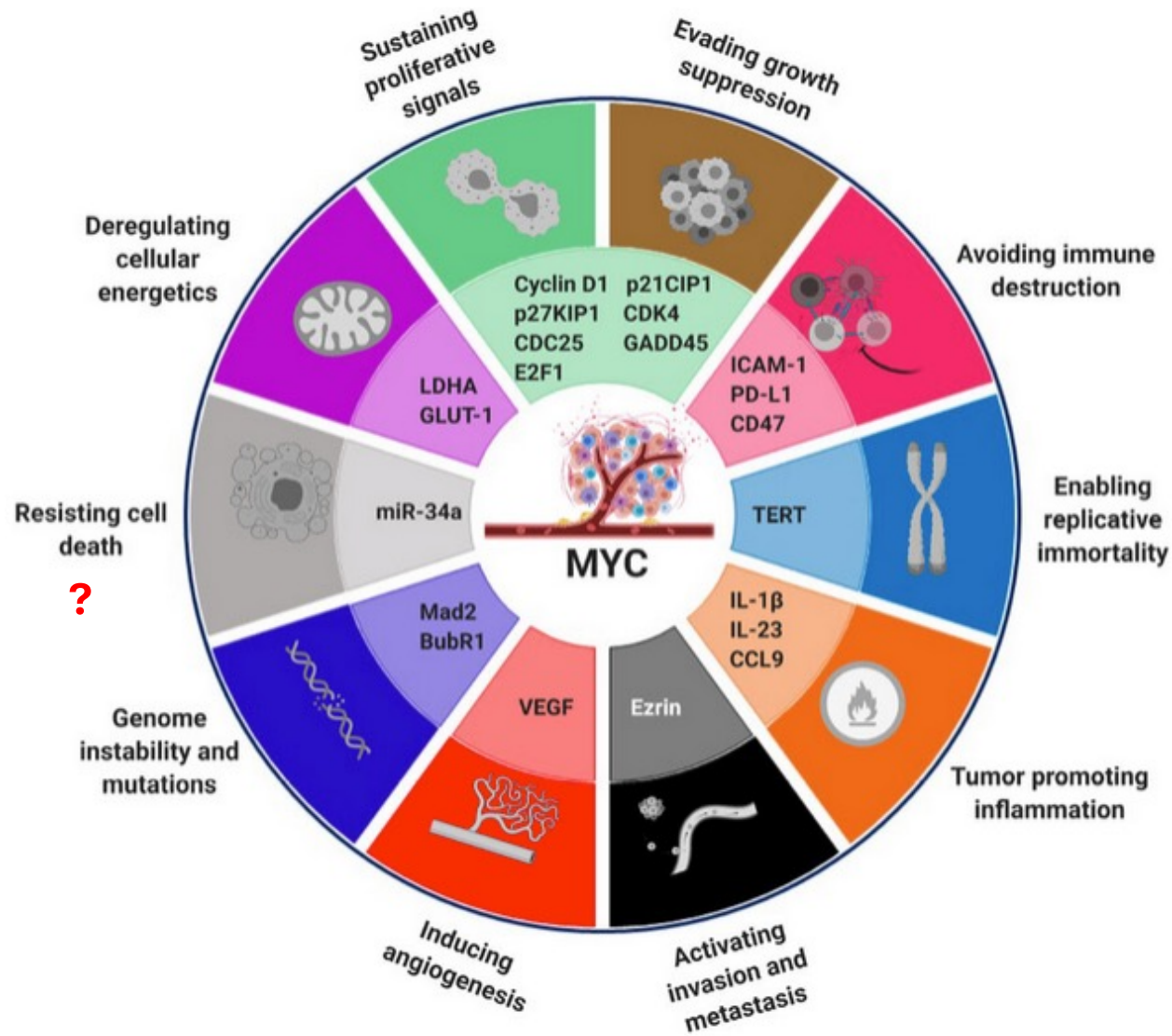
<http://www.myccancergene.org> : ~1700 genes



MYC ET LA TRANSITION G1/S



Myc as a central node in the hallmarks of cancer



c-MYC IN HUMAN TUMORS

- 70% of human tumors overexpress c-Myc
- Tumors involving c-MYC : 100 000 deaths per year in the USA (~20% cancer deaths)

Tumor type	Frequency of MYC aberrations
<i>Hematological malignancies</i>	
B-acute lymphocytic leukemia	rearrangement/amplification (47–52%)
Burkitt's lymphoma	translocation (100%)
Diffuse large cell lymphoma	rearrangement/translocation (6–16%) overexpression (10%)
Multiple myeloma	translocation (15%)
Primary plasma cell leukemia	rearrangement (13%)

C-MYC IN HUMAN TUMORS

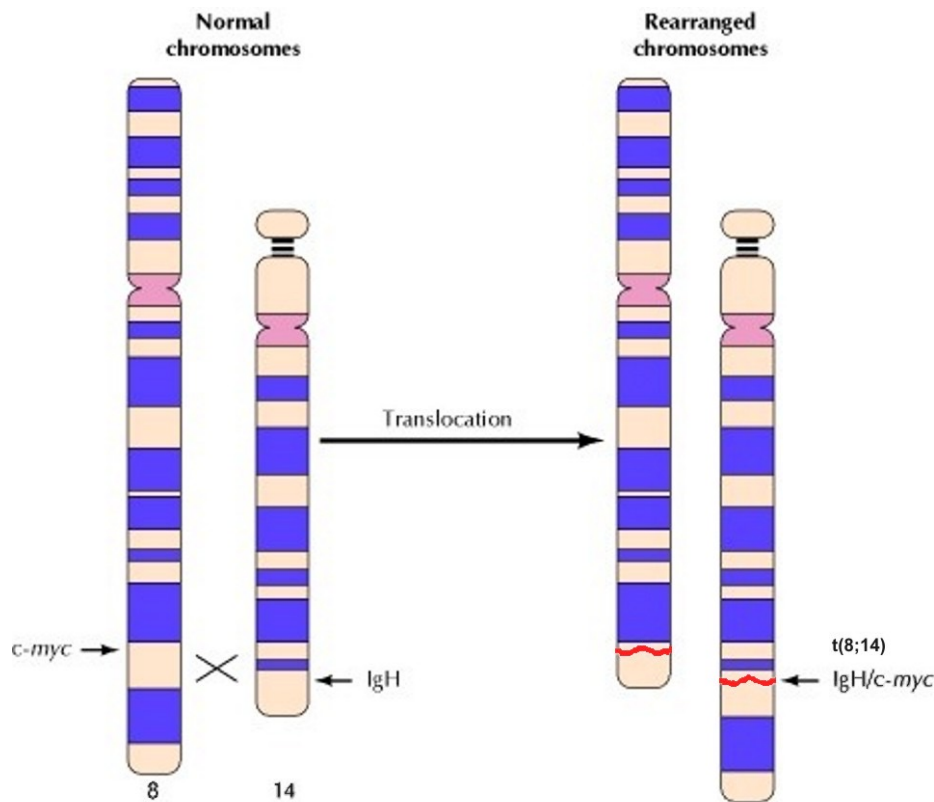
Tumor type	Frequency of MYC aberrations
<i>Solid tumors</i>	
Atypical carcinoid lung cancer	amplification (17%)
Bladder cancer	amplification (33%)
Breast cancer	amplification (9–48%) overexpression (45%)
Cervix cancer	amplification (29%)
Colon cancer	amplification (17%) overexpression (67%)
Gastric cancer	amplification (15–30%) overexpression (47%)
Glioblastoma	MYCN amplification (<5%) C-MYC/MYCN/MYCL1 overexpression (57–78%)
Hepatocellular carcinoma	amplification (33%)
Large cell neuroendocrine carcinoma	amplification (23%)
Medulloblastoma	C-MYC/MYCN amplification (5–15%) C-MYC overexpression (31%) MYCN overexpression (68%)

C-MYC IN HUMAN TUMORS

Tumor type	Frequency of MYC aberrations
<i>Solid tumors</i>	
Melanoma, nodular	amplification (61%)
Melanoma, superficial spreading	amplification (28%)
Neuroblastoma	MYCN amplification (25–30%)
Oesophageal squamous cell carcinoma	amplification (10–30%)
Osteosarcoma	amplification (7–78%)
Ovarian cancer	amplification (40%) overexpression (44%) MYCL1 amplification (15%) MYCL1 overexpression (40%)
Prostate cancer	amplification (30–50%) overexpression (70%)
Renal clear cell carcinoma	amplification (8%)
Retinoblastoma	MYCN amplification (10–20%)
Rhabdomyosarcoma	MYCN amplification (43–67%)
Small cell lung carcinoma	C-MYCAmplification (20%) MYCL1 amplification (13%) MYCN amplification (10%)

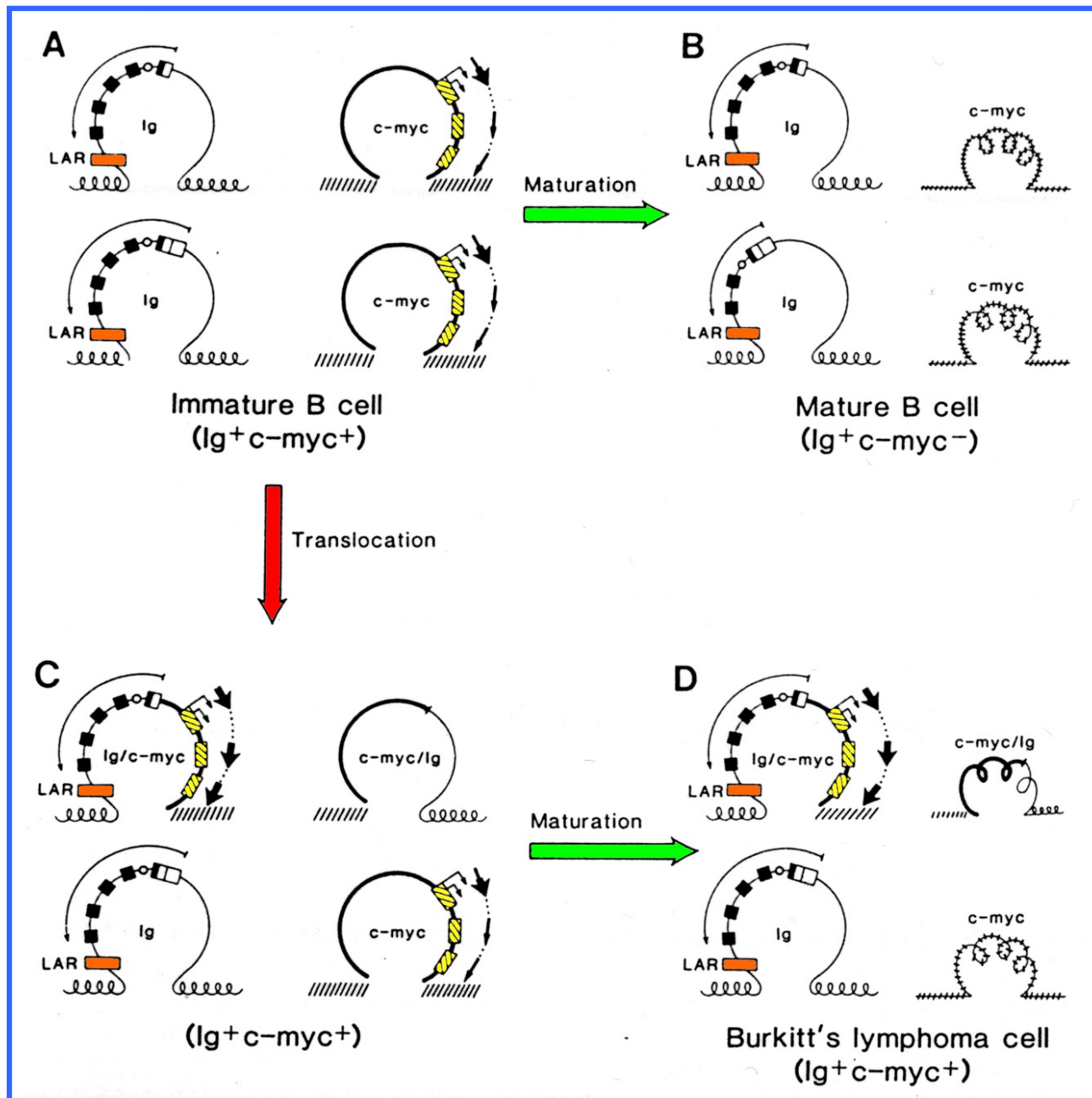
Oncogenic activation of c-MYC by chromosomal translocations

Chromosomal translocations involving immunoglobulin genes in Burkitt lymphoma (B Lymphoma)



t(8,14)(q24;q32)	c-myc (8q24) IgH (14q32)	80%
t(8,22)(q24;q11)	c-myc (8q24) Igλ (22q11)	15%
t(2,8)(p12;q24)	c-myc (8q24) Igκ (2p12)	5%

Oncogenic activation of c-MYC by chromosomal translocations



Normal Lymphocytes

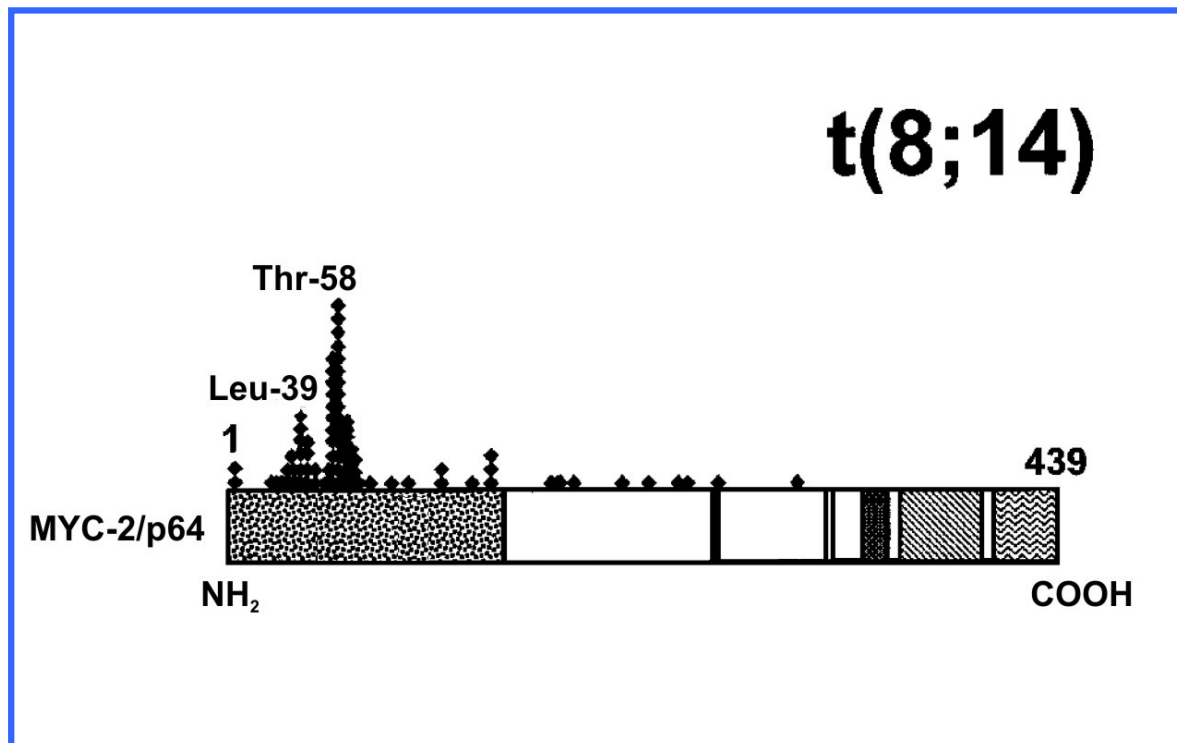
- Ig production
- c-myc OFF
- No proliferation

Tumoral Lymphocytes

- Ig production
- c-myc ON
- Proliferation

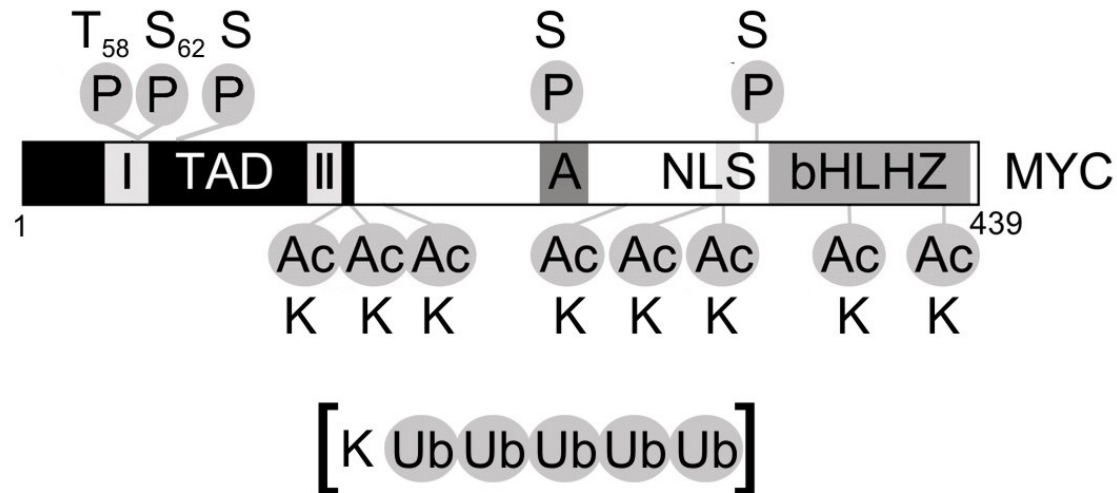
Oncogenic activation of c-MYC by chromosomal translocations

- Alteration of regulatory sequences
- 65-90% Burkitt Lymphoma patients exhibit mutation in cMyc exon 2



Thr-58 phosphorylation leads to degradation by the proteasome (20 min half -life)
Thr-58 mutation = stabilisation

Post-translational modifications controlling c-Myc stability



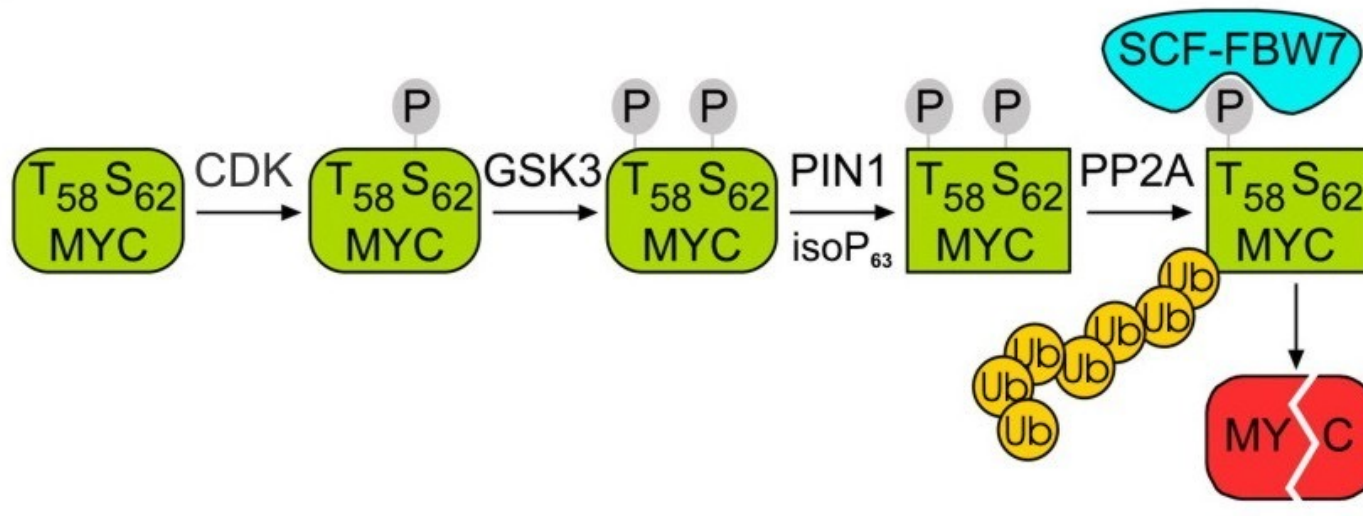
phosphorylation (ser thr)

acétylation (lys)

ubiquitination (lys)

FBW7 : F box protein
SCF : ubiquitin ligase

dégradation



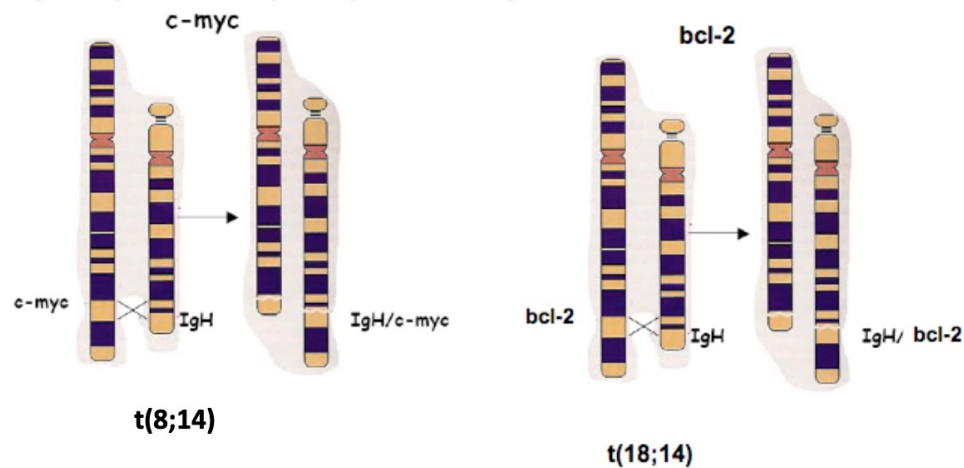
Misense mutation on T58 contribute to stabilize c-Myc protein!

Follicular lymphoma

- Deregulated growth of mature B lymphocytes
 - Lymphatic node hyperplasia

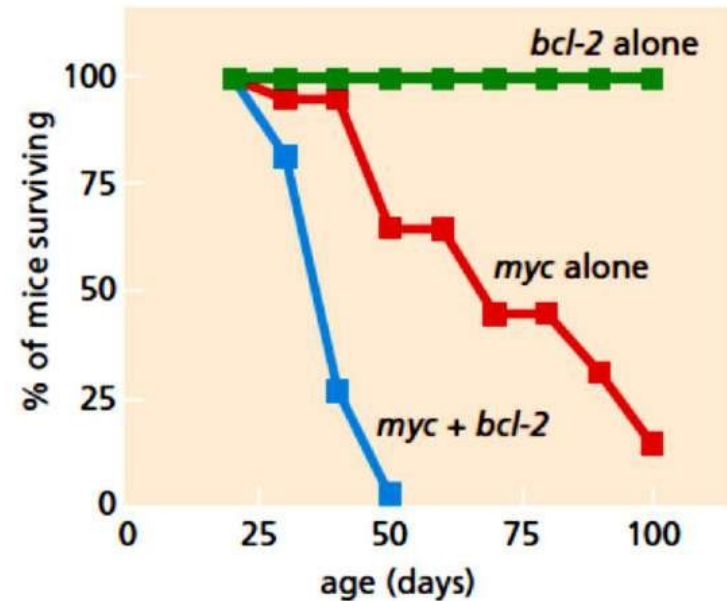
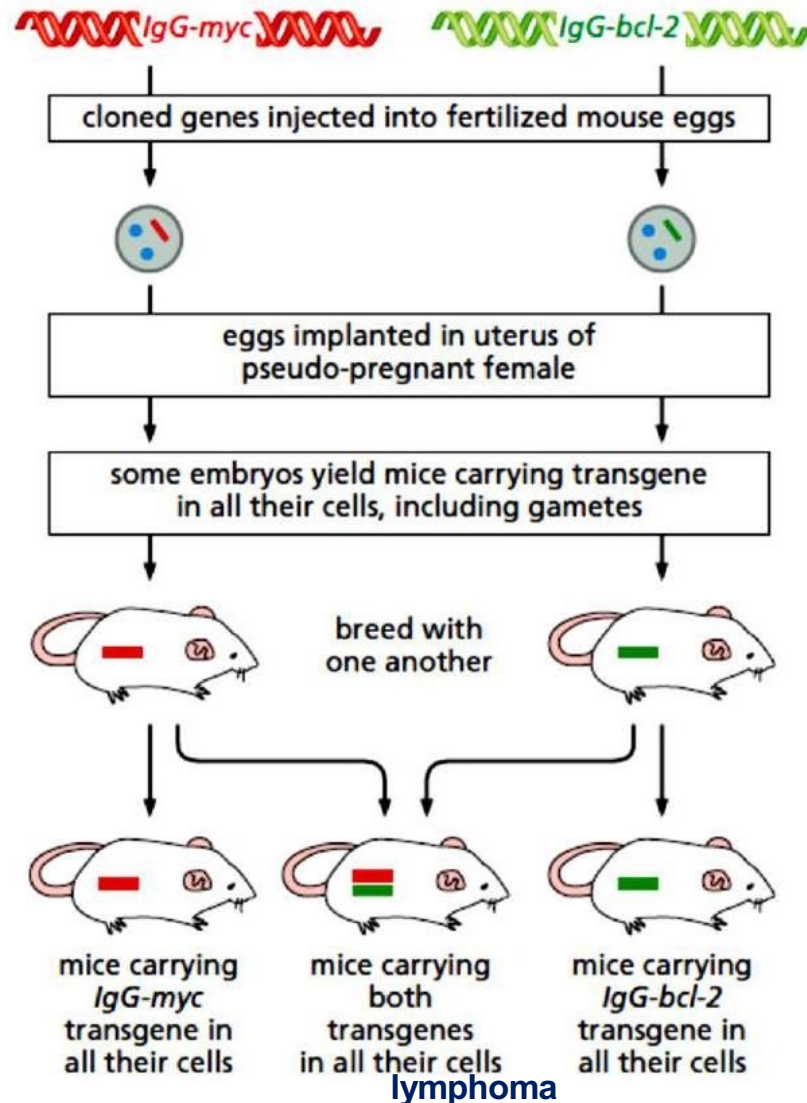


- Associated chromosome translocations :
 $t(8;14)$; $t(14;18)$; $t(12;15)$

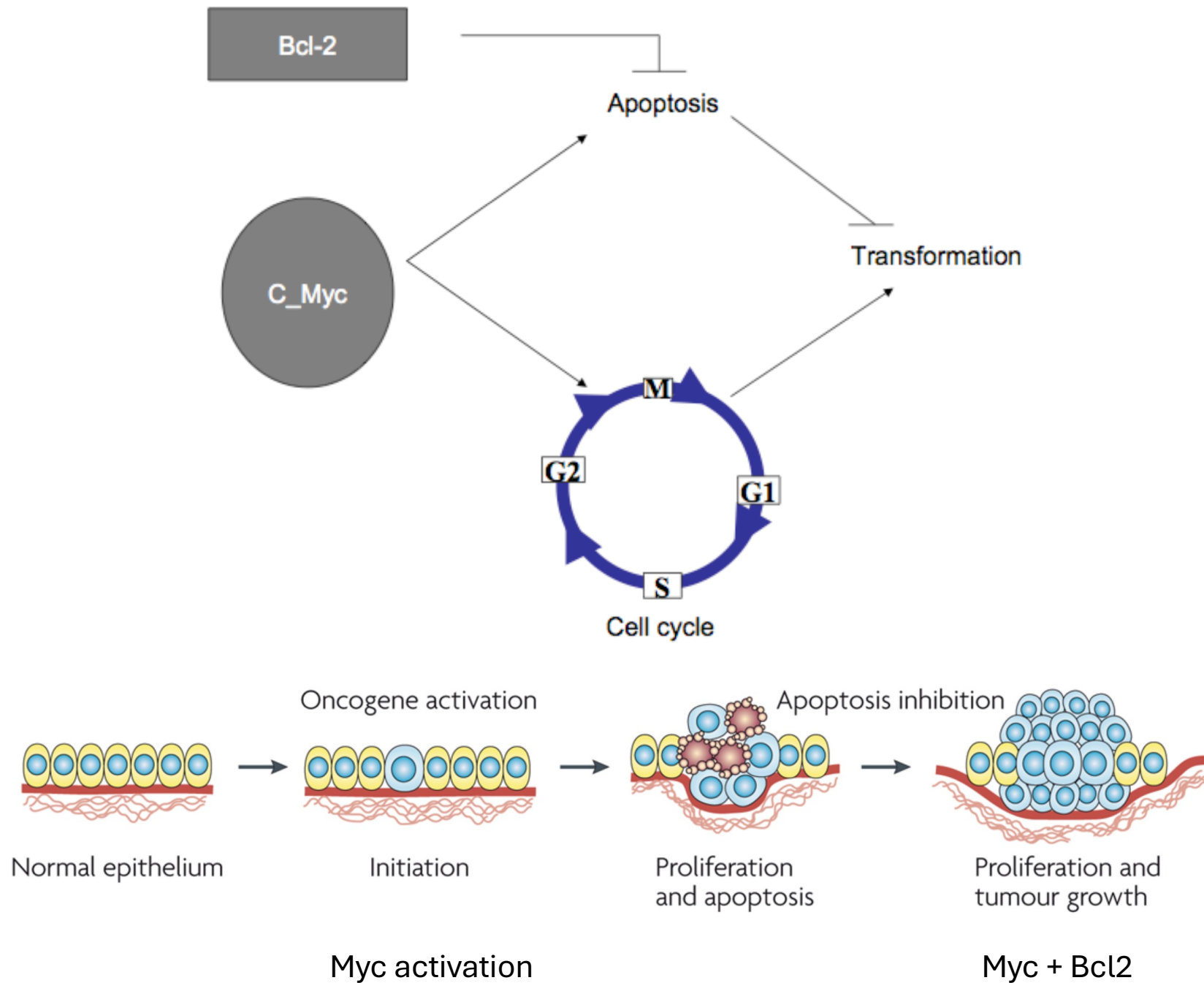


- Lymphomas with both $t(8;14)$ and $t(18;14)$ translocations are more aggressive.

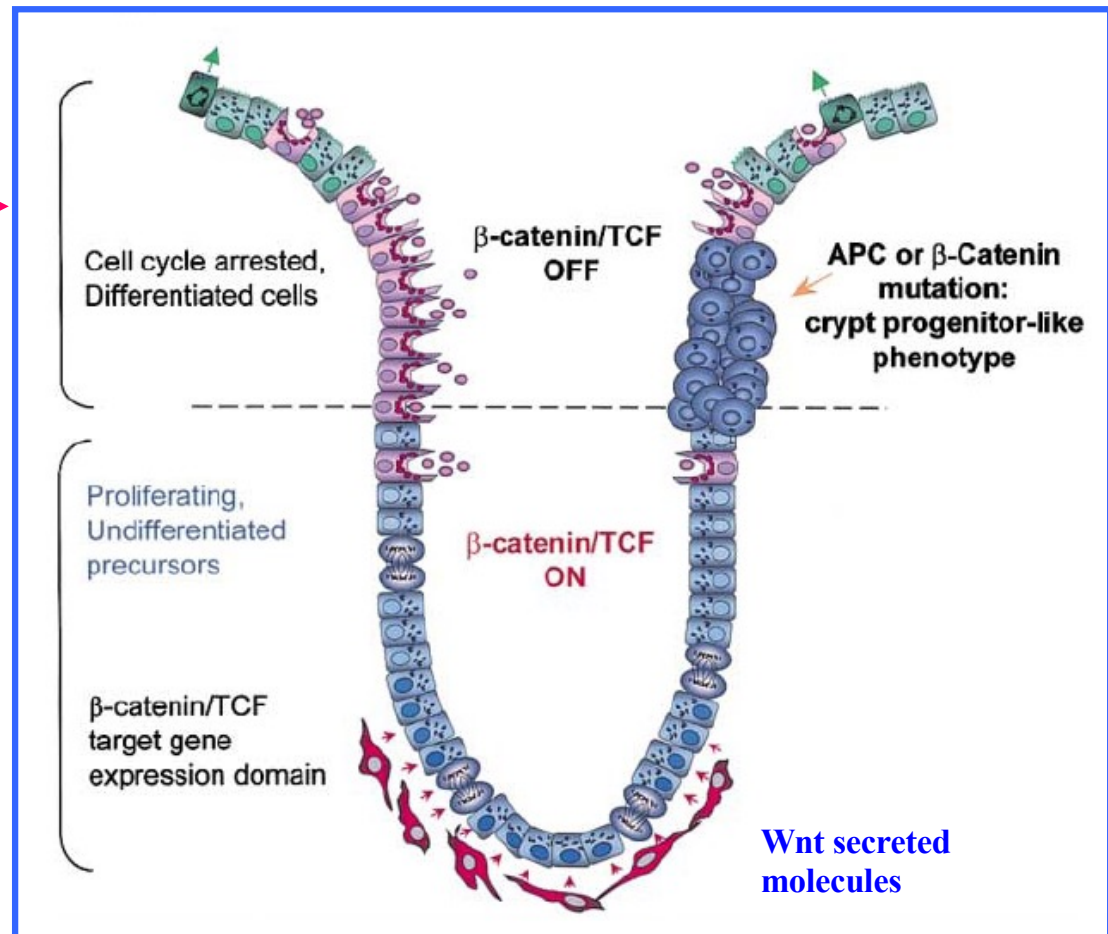
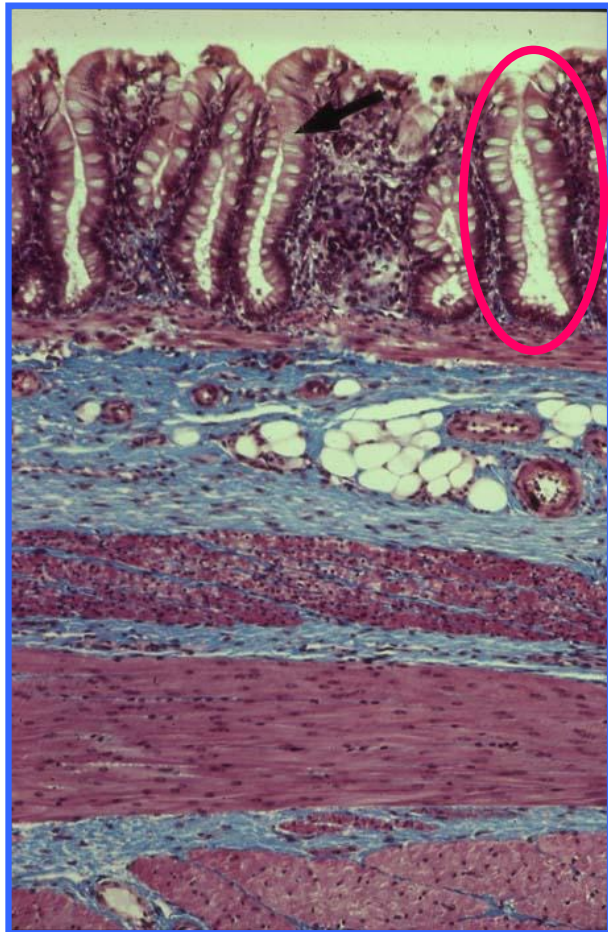
Cooperation entre oncogenes



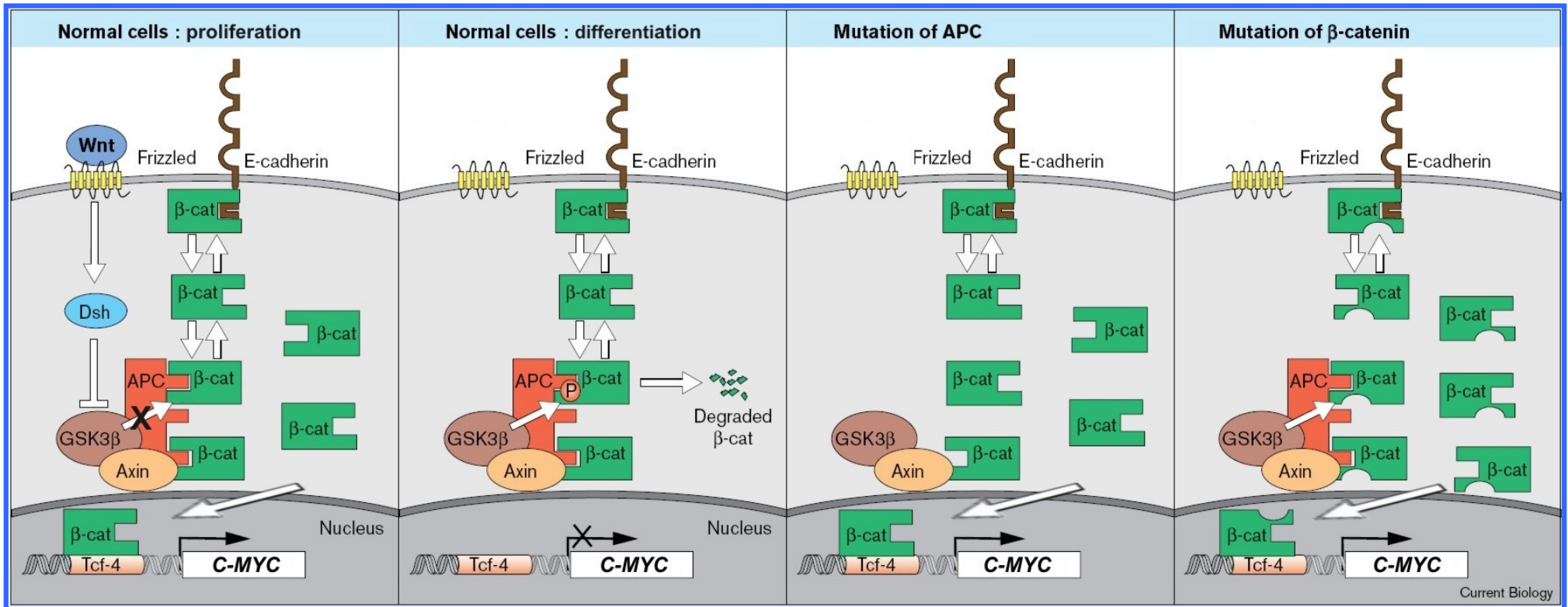
Collaboration between Bcl-2 and c-Myc in cell transformation (Evan, 1992)



c-Myc overexpression in colorectal cancer

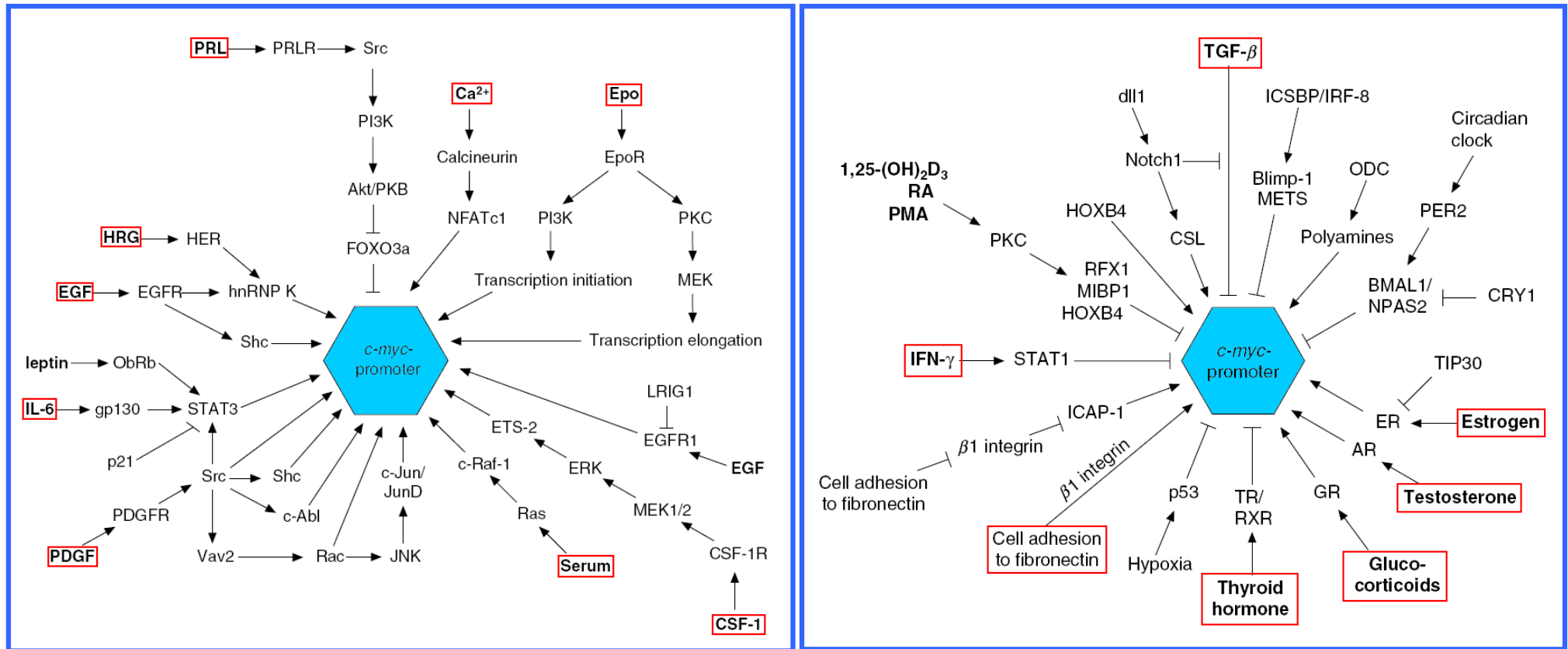


c-Myc overexpression in colorectal cancer



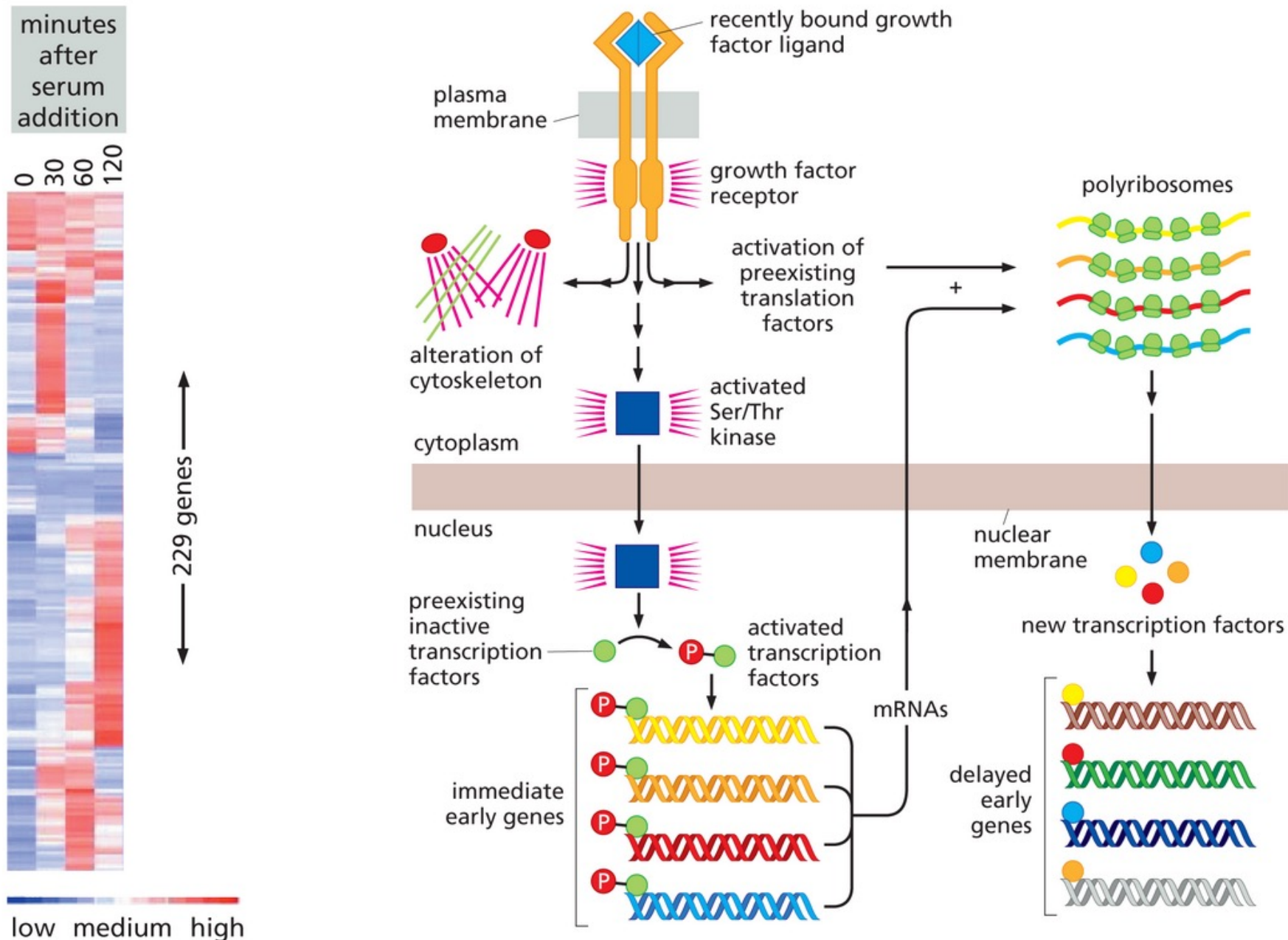
APC (Adenomatous Polyposis Coli) is mutated in 80% of colorectal cancers leading to Wnt/beta-catenin pathway activation **AND c-Myc expression**

Control of C-MYC expression

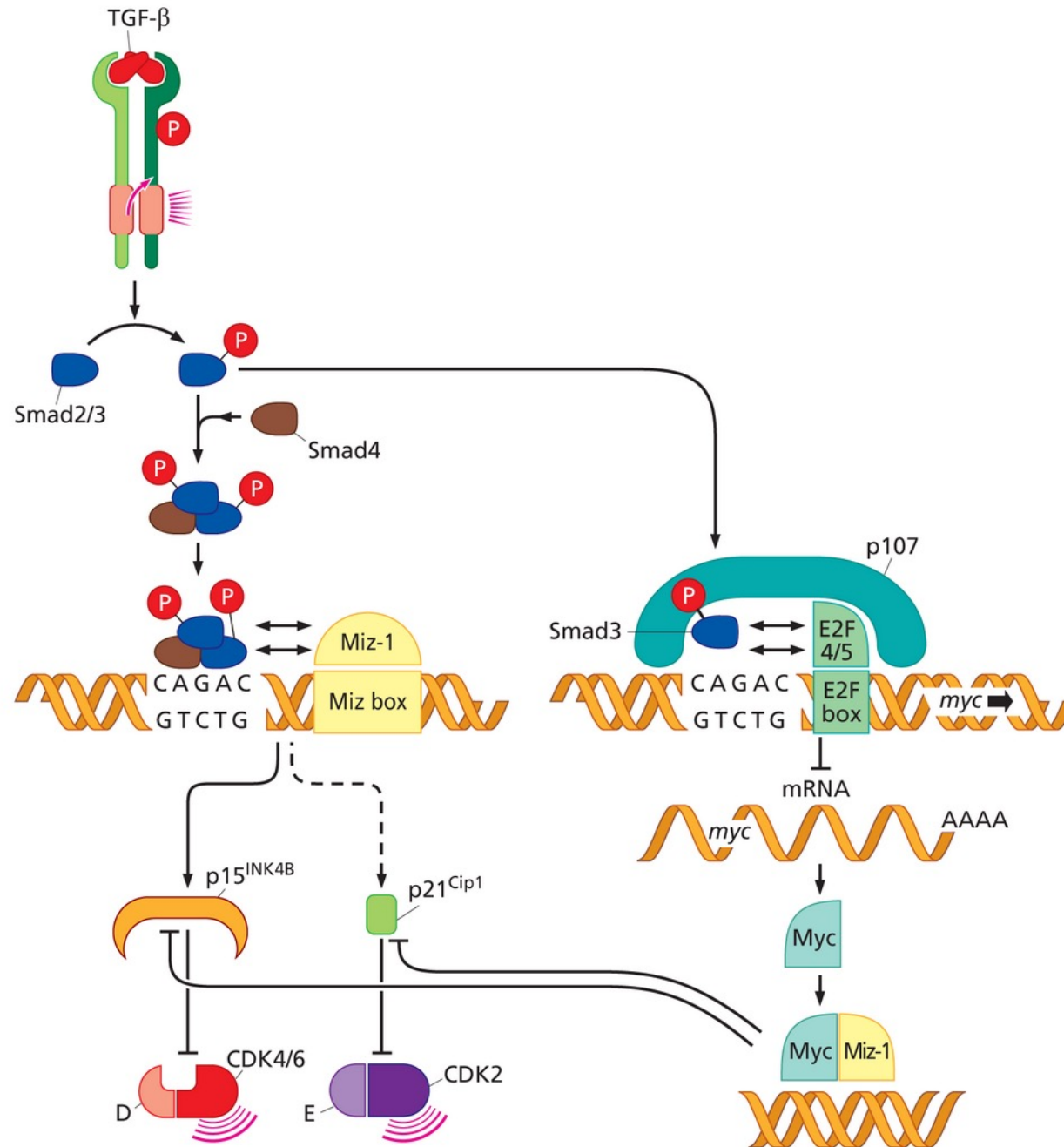


A lot of signal transduction pathways regulate c-Myc expression!

c-Myc est un gène immédiat précoce induit suite à l'activation de la voie des récepteurs aux facteurs de croissance



L'expression de c-Myc est réprimée par des signaux anti-prolifératifs



La transformation des cellules requière la collaboration de plusieurs oncogènes

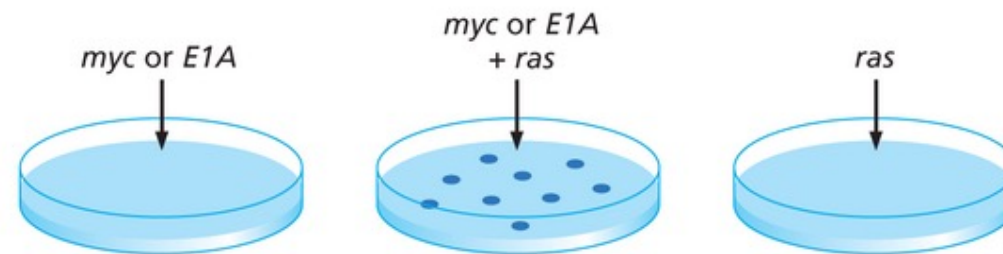


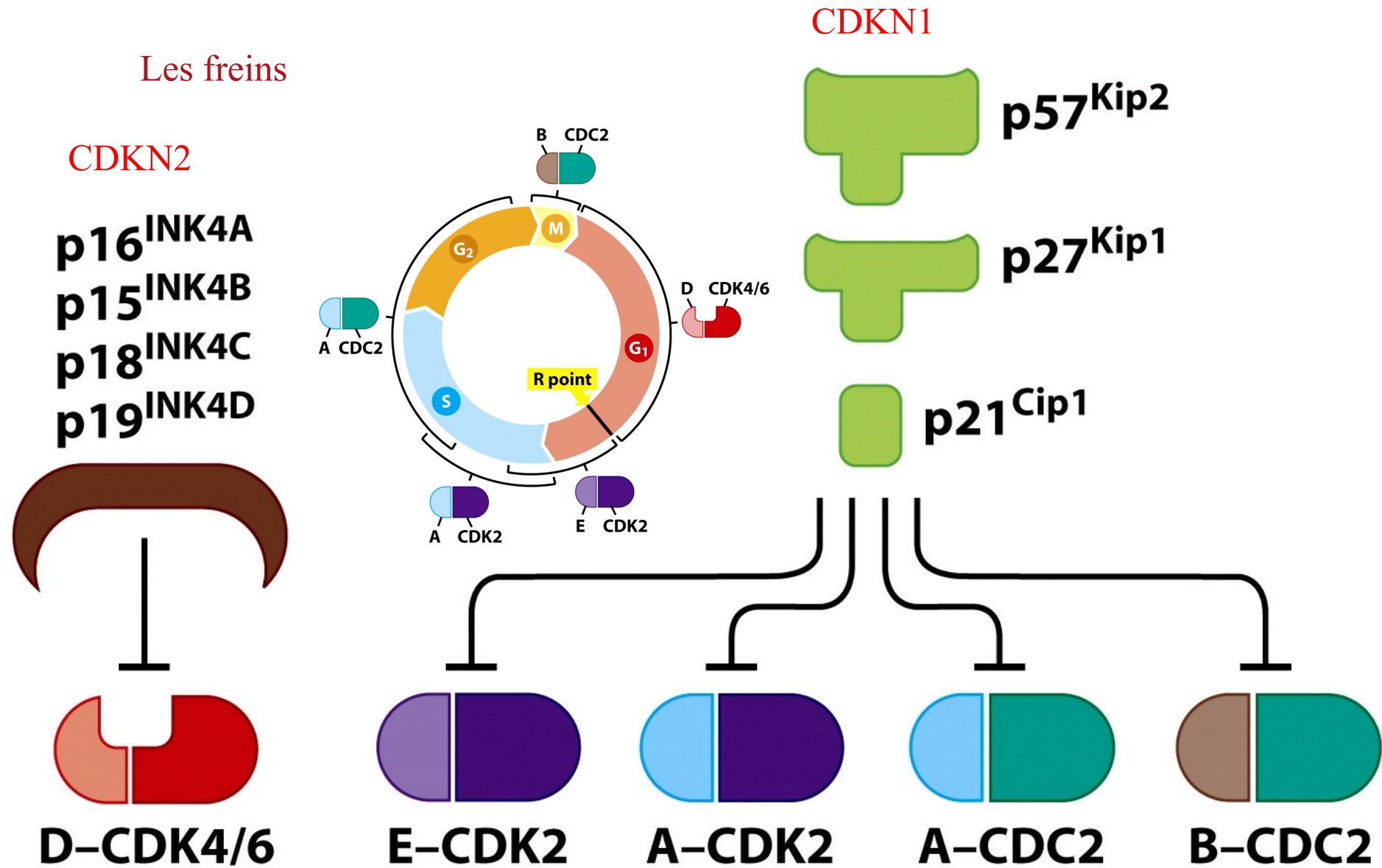
Table 11.2 Physiological mechanisms of oncogene collaboration^a

Oncogene pair	Cell type	Mechanisms of action
<i>ras</i> + SV40 <i>large T</i>	rat Schwann cells	<i>ras</i> : proliferation + proliferation arrest
		<i>large T</i> : prevents proliferation arrest and reduces mitogen requirement
<i>ras</i> + <i>E1A</i>	mouse embryo fibroblasts	<i>ras</i> : proliferation and senescence
		<i>E1A</i> : prevents senescence
<i>erbB</i> + <i>erbA</i>	chicken erythroblasts	<i>erbB</i> : induces GF-independent proliferation
		<i>erbA</i> : blocks differentiation
<i>TGF-α</i> + <i>myc</i>	mouse mammary epithelial cells	<i>TGF-α</i> : induces proliferation and blocks apoptosis
		<i>myc</i> : induces proliferation and apoptosis
<i>v-sea</i> + <i>v-ski</i>	avian erythroblasts	<i>v-sea</i> : induces proliferation
		<i>v-ski</i> : blocks differentiation
<i>bcl-2</i> + <i>myc</i>	rat fibroblasts	<i>bcl-2</i> : blocks apoptosis
		<i>myc</i> : induces proliferation and apoptosis
<i>ras</i> + <i>myc</i>	rat fibroblasts	<i>ras</i> : induces anchorage independence
		<i>myc</i> : induces immortalization
<i>raf</i> + <i>myc</i>	chicken macrophages	<i>raf</i> : induces growth factor secretion
		<i>myc</i> : stimulates proliferation
<i>src</i> + <i>myc</i>	rat adrenocortical cells	<i>src</i> : induces anchorage and serum independence
		<i>myc</i> : prolongs proliferation

II/ LES GENES SUPPRESSEURS DE TUMEURS

Rappel: Les freins à la division cellulaire

Mode d' action des inhibiteurs de kinases dépendantes de cyclines



Gènes activés par des répresseurs de la prolifération (TGFbeta...)

Contrôle négatif de la progression du cycle cellulaire par le TGFbeta et induction de l'ARN INK4B (p15, CDKN2B)

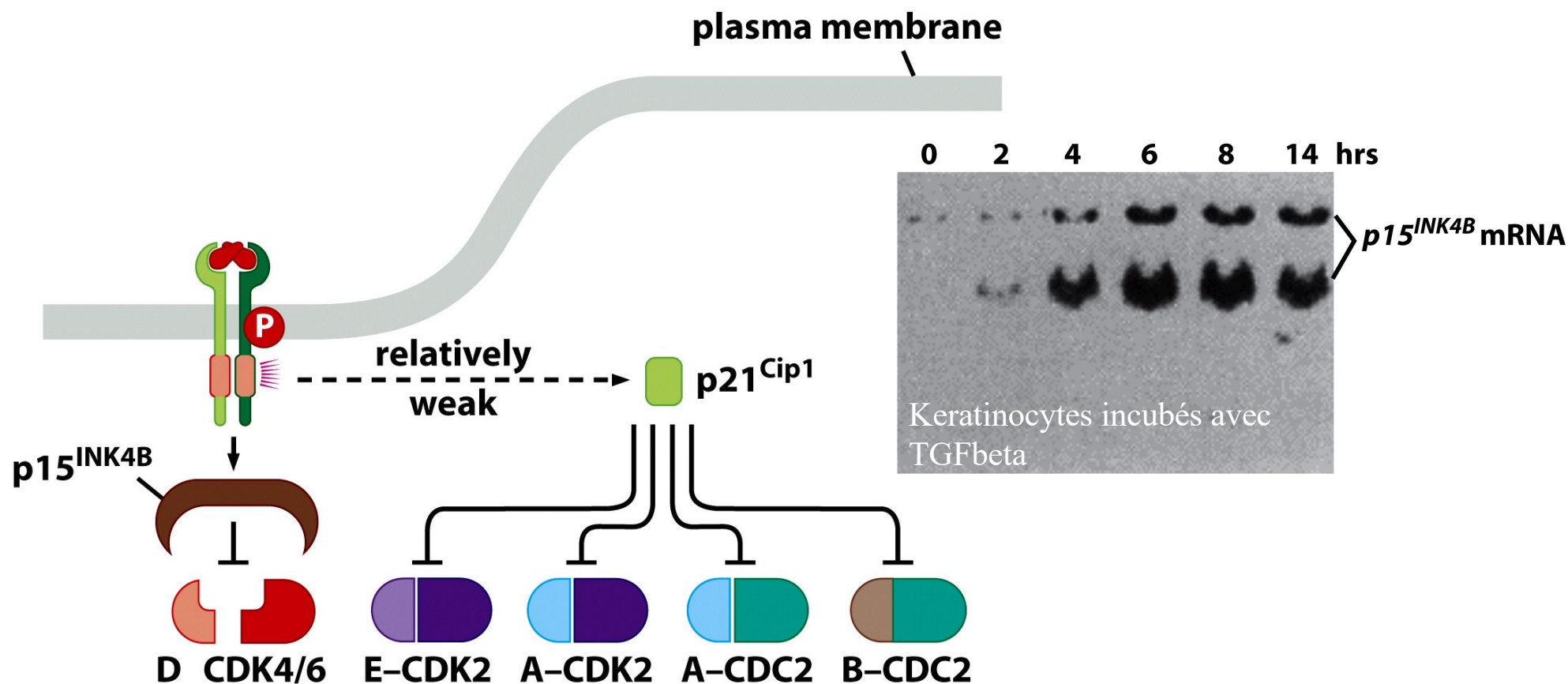


Figure 8.14a *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Contrôle de l'avancée du cycle cellulaire par les signaux extracellulaires

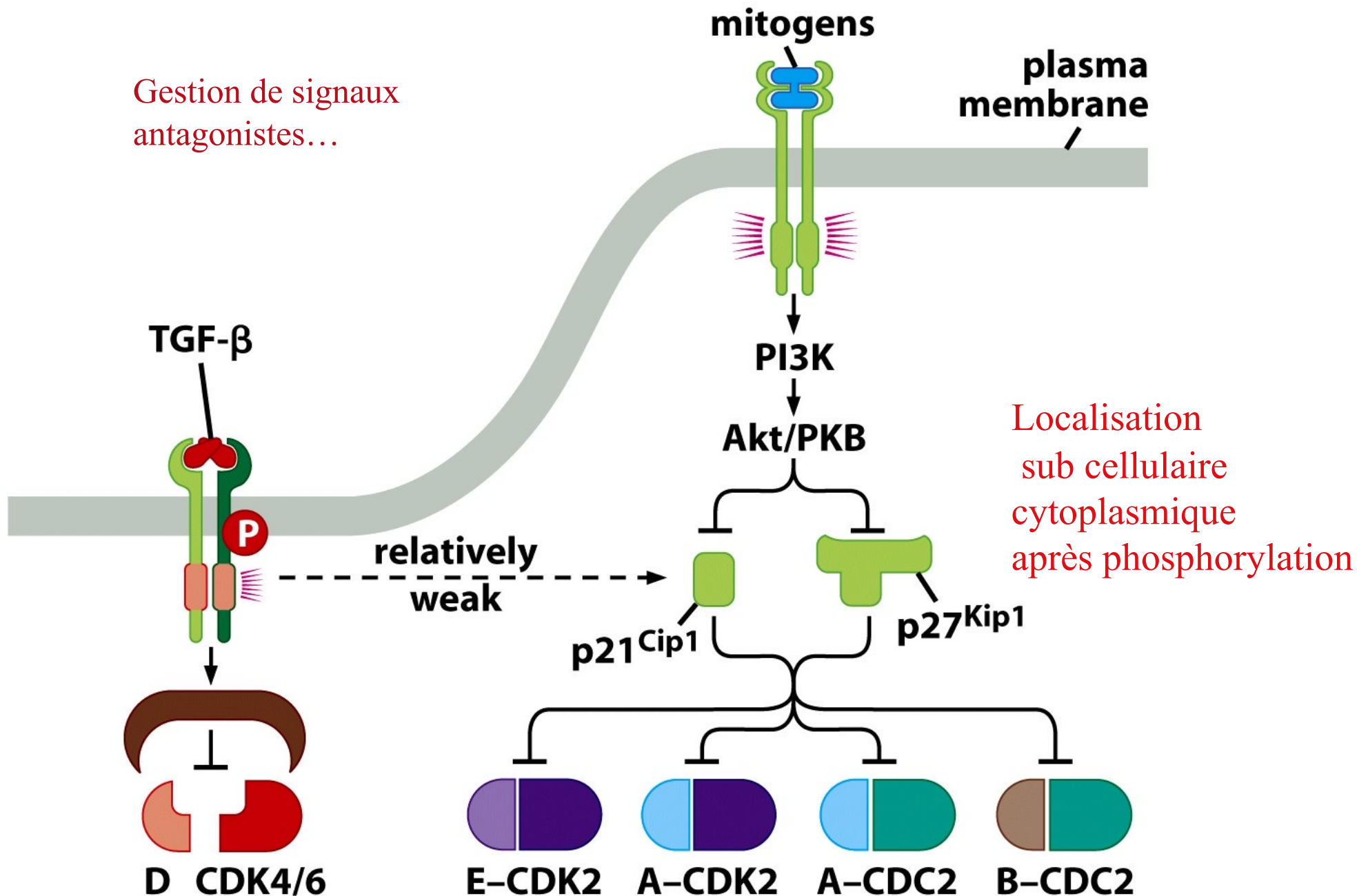


Figure 8.15a *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Interaction des inhibiteurs de CDK avec les complexes cyclin-CDK

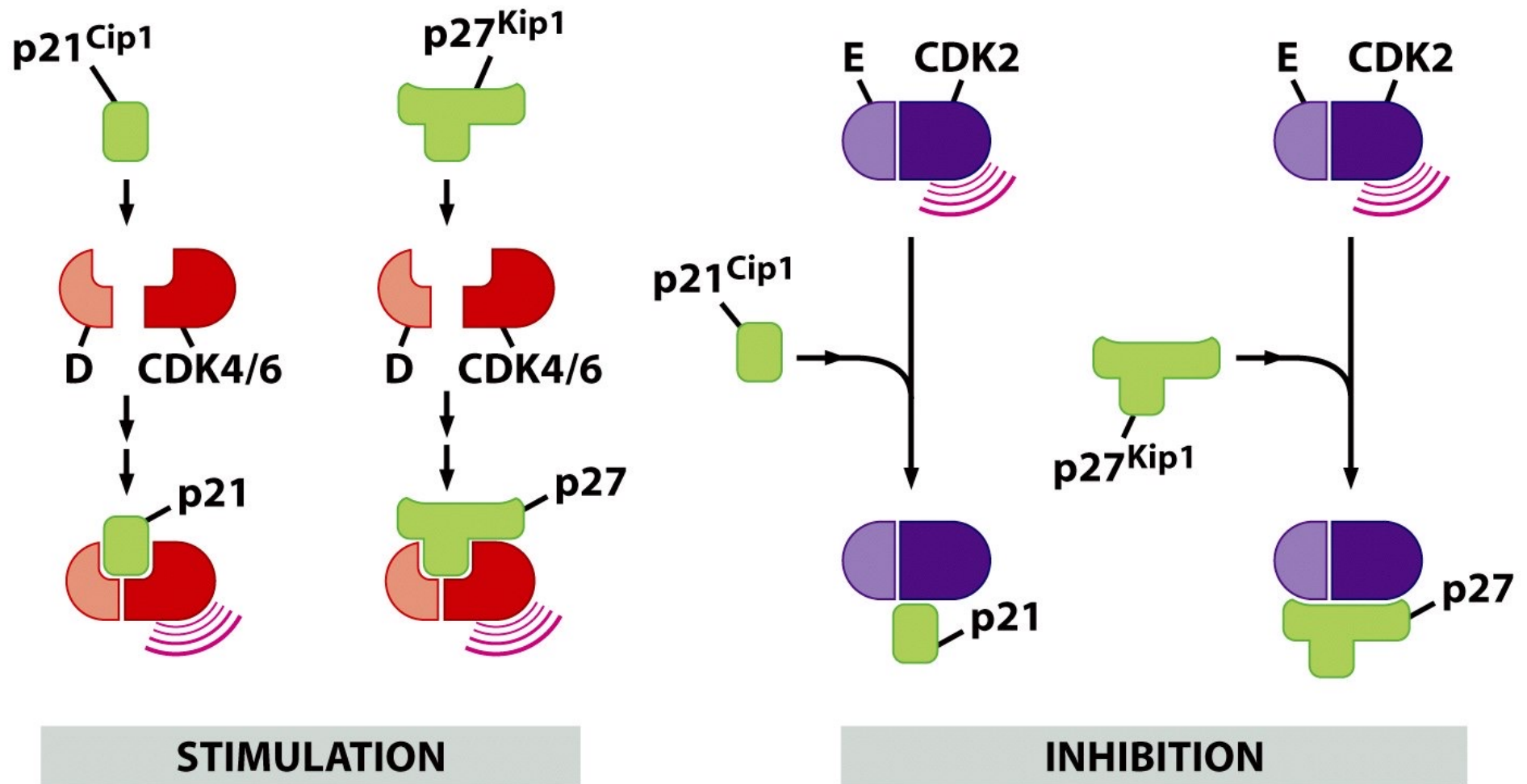
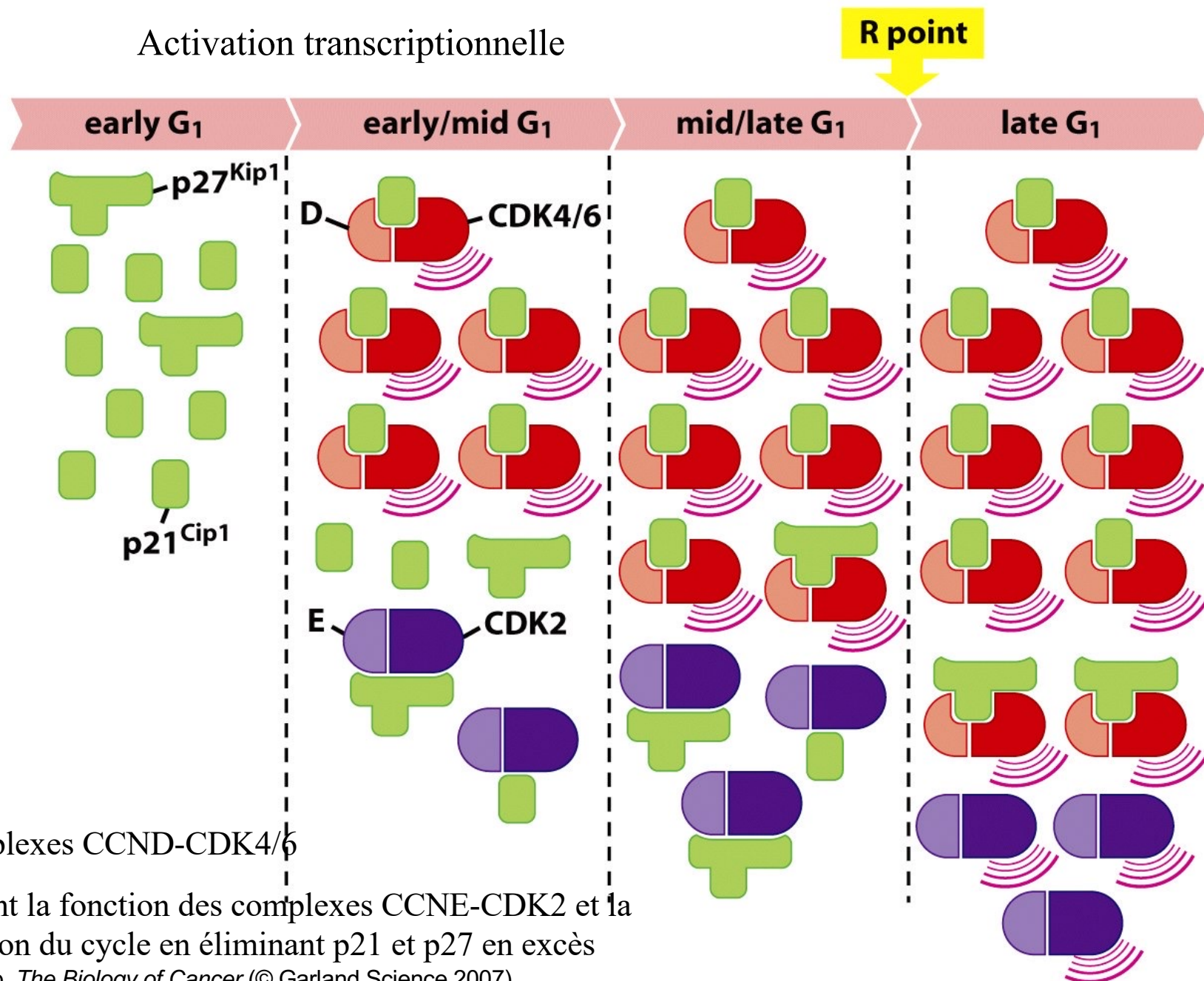


Figure 8.17a *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Interaction des inhibiteurs de CDK avec les complexes cyclin-CDK



Les complexes CCND-CDK4/6

permettent la fonction des complexes CCNE-CDK2 et la progression du cycle en éliminant p21 et p27 en excès

Figure 8.17b *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

A/ Le gène suppresseur de tumeur Rb

pRB est le premier gène onco-suppresseur identifié et cloné

Le rétinoblastome : cancer de la rétine atteignant l'enfant

Fréquence: 1 enfant affecté sur 20000



Cas sporadiques

- 60% des cas.
- Apparition chez des enfants sans antécédent familial.
- Survient dans un œil (unilatéral).

Retinoblastome héréditaire

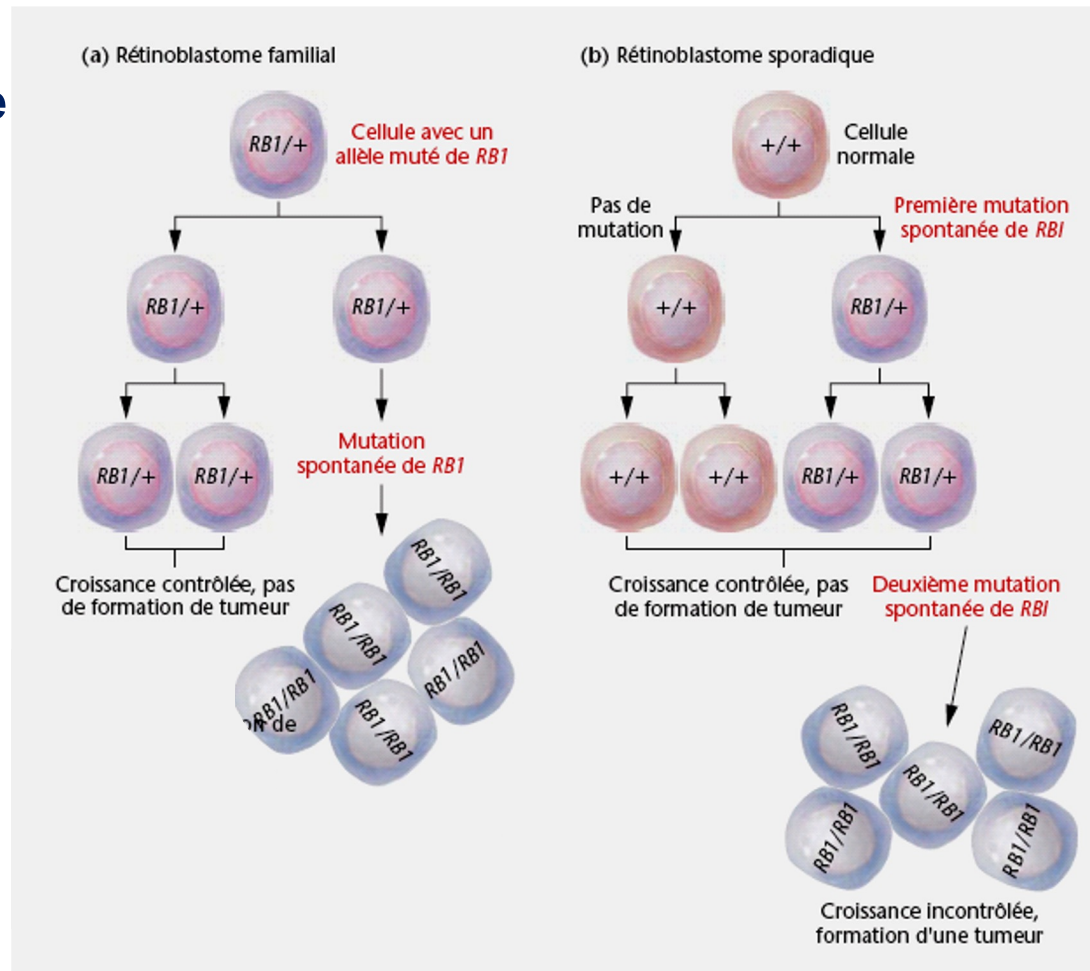
- 40% des cas.
- Survient plus tôt.
- Multiples tumeurs dans les deux yeux (bilatéral).
- Se reproduit dans la famille.
- Les allèles mutants sont généralement dominants à pénétrance complète pour la maladie

Hypothèse de AJ Knudson Jr, 1971

Au niveau cellulaire, le caractère « transformé » conféré par les allèles mutants est récessif. Seuls les homozygotes ($rb-/rb-$) développent des tumeurs.

Individus $rb-/RB^+$:
Une mutation suffit pour qu'apparaisse une cellule $rb-/rb-$.

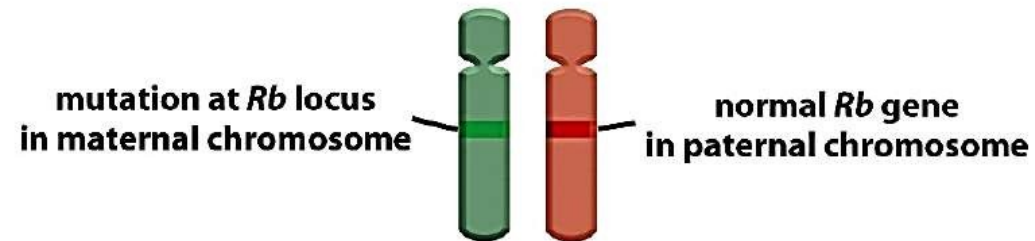
La probabilité que les deux yeux soient touchés est importante



Individus RB^+/RB^+ :
il faut deux événements **dans la même cellule** pour développer la maladie. La probabilité est très faible. Un seul oeil est touché.

Possible ways to eliminate the wild-type allele

HEALTHY CELL WITH ONLY ONE NORMAL *Rb* GENE COPY

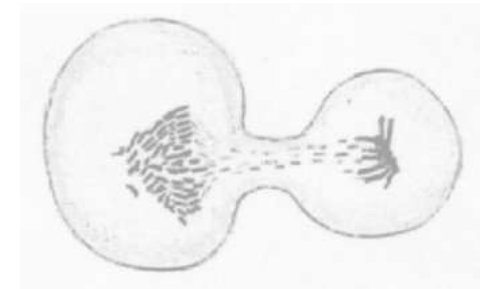


POSSIBLE WAYS OF ELIMINATING NORMAL *Rb* GENE (*Loss of heterozygosity*)



nondisjunction
causes
chromosome
loss

hemizygoty



Possible ways to eliminate the wild-type allele

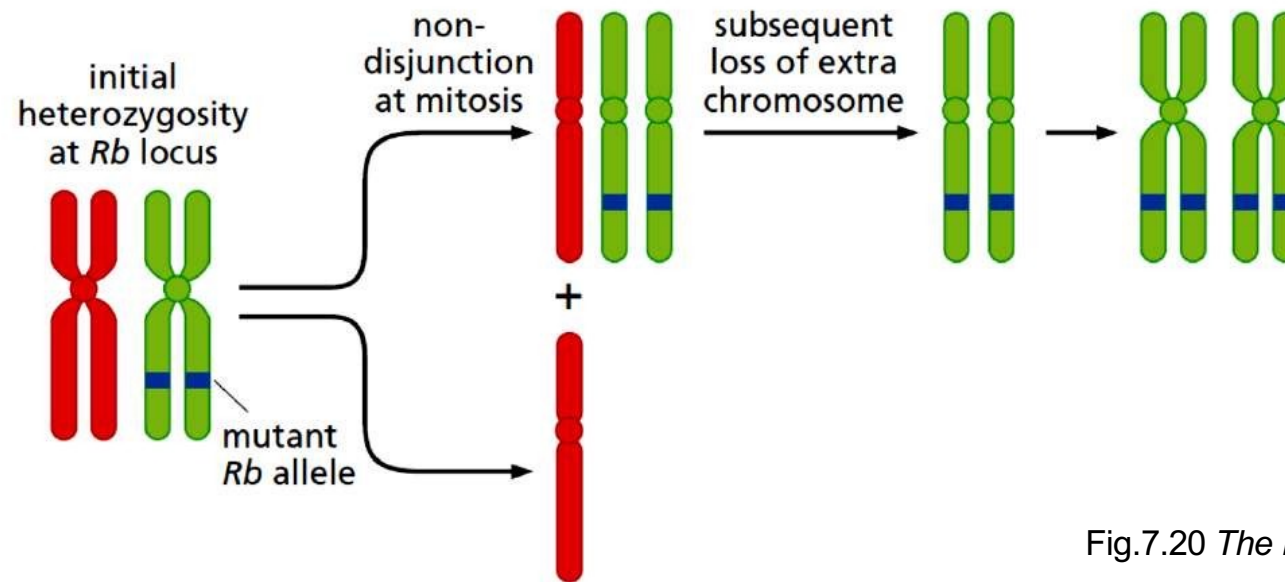
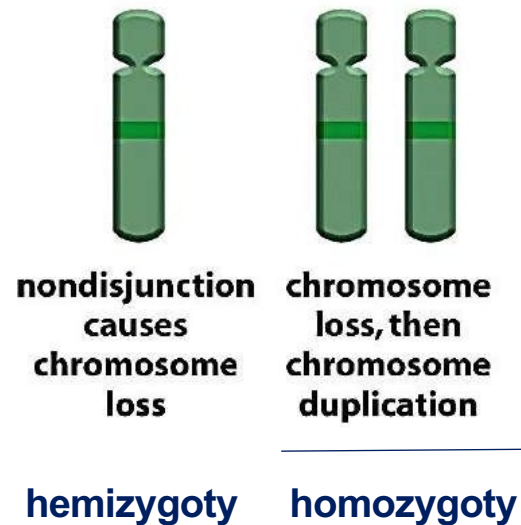


Fig.7.20 *The Biology of Cancer*, 2008

POSSIBLE WAYS OF ELIMINATING NORMAL *Rb* GENE



Possible ways to eliminate the wild-type allele

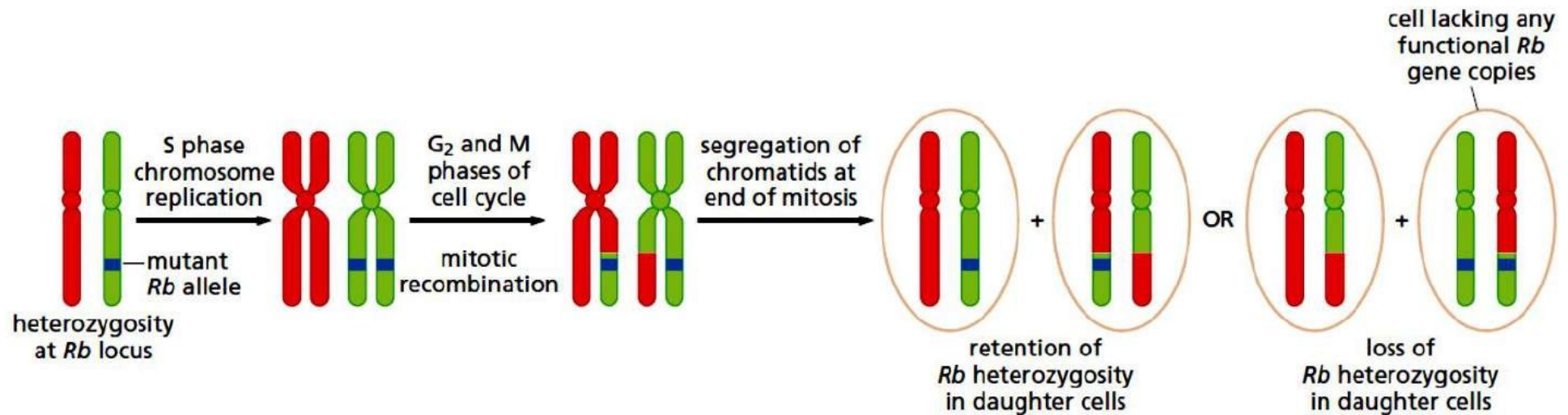
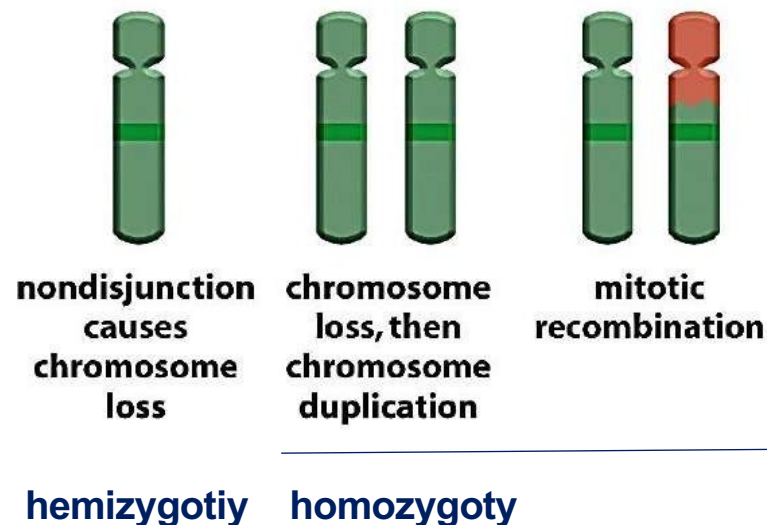


Fig.7.7 *The Biology of Cancer*, 2014

POSSIBLE WAYS OF ELIMINATING NORMAL *Rb* GENE



Possible ways to eliminate the wild-type allele

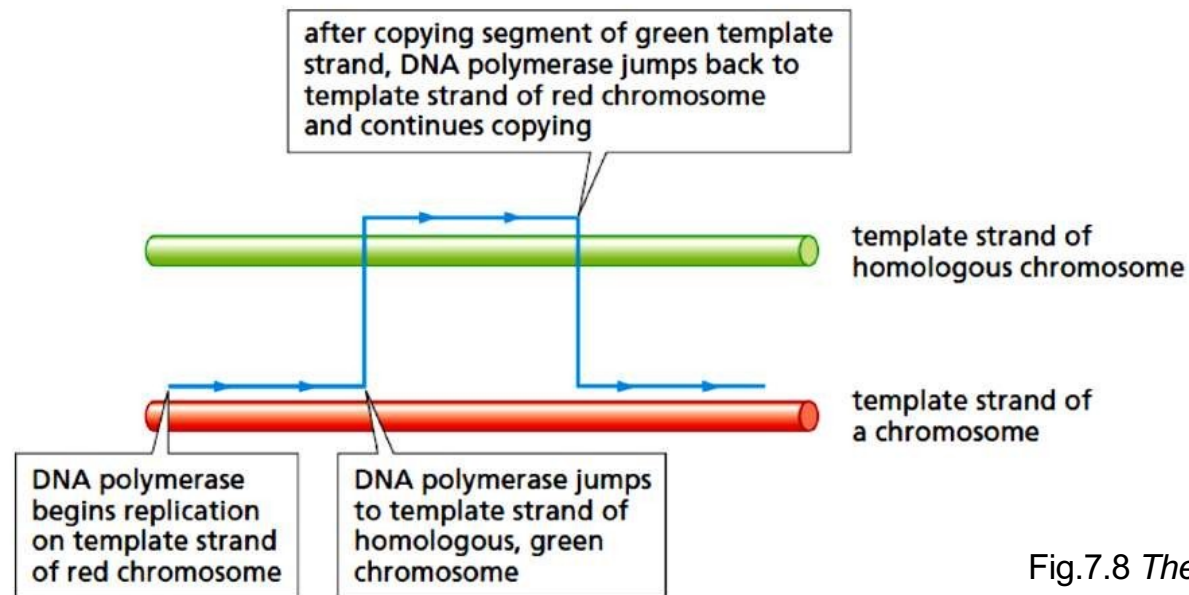
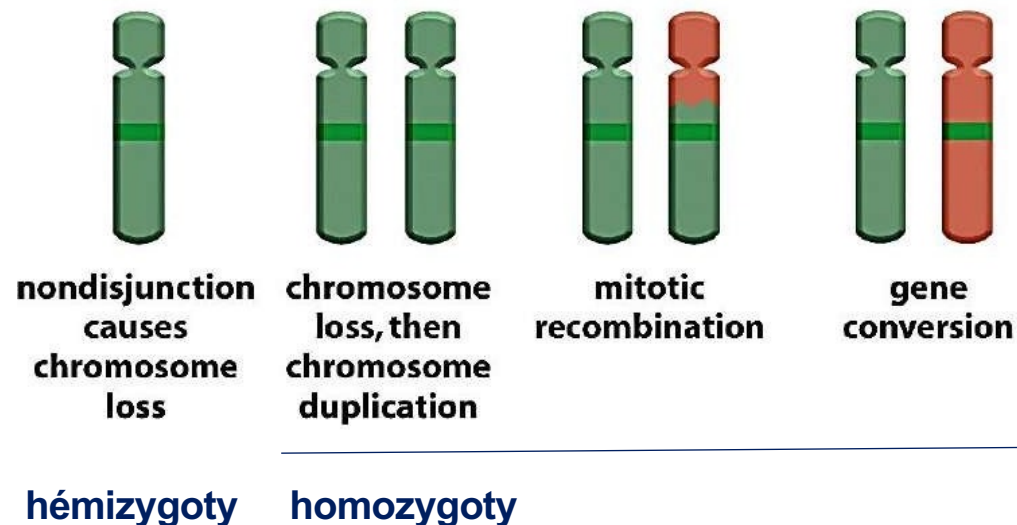


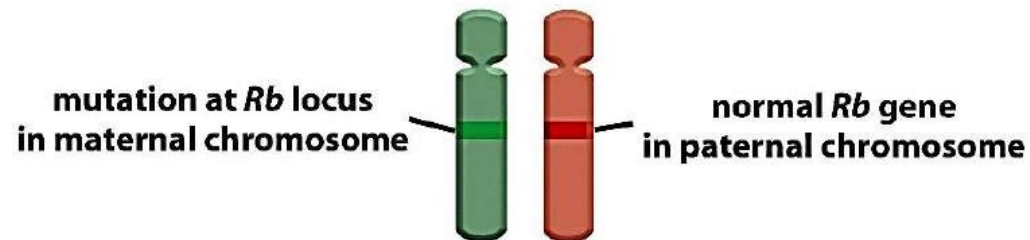
Fig.7.8 *The Biology of Cancer*, 2014

POSSIBLE WAYS OF ELIMINATING NORMAL *Rb* GENE

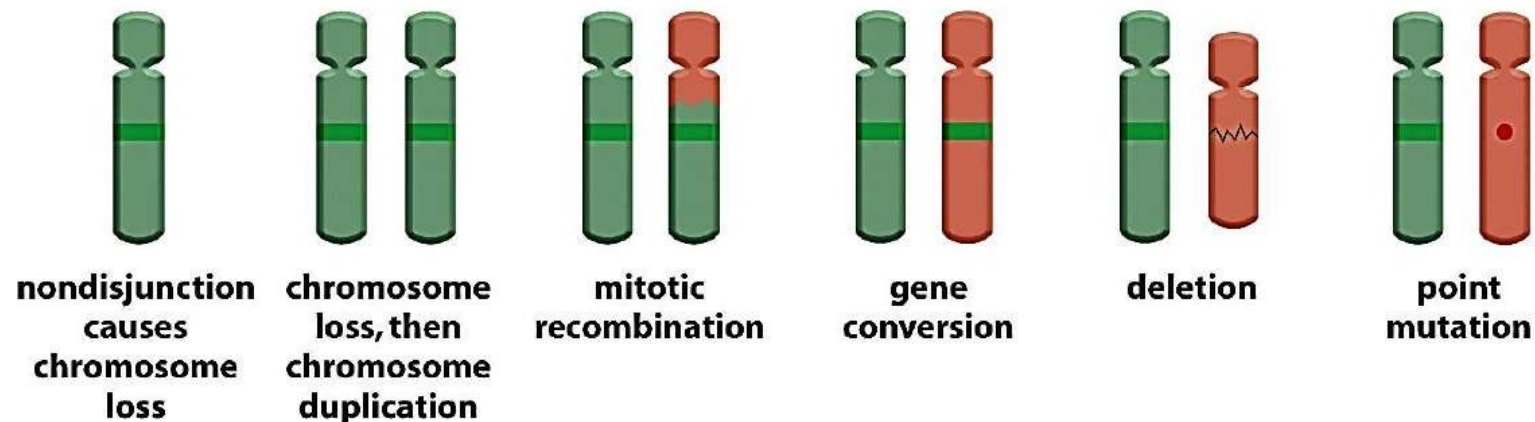


Possible ways to eliminate the wild-type allele

HEALTHY CELL WITH ONLY ONE NORMAL *Rb* GENE COPY



POSSIBLE WAYS OF ELIMINATING NORMAL *Rb* GENE

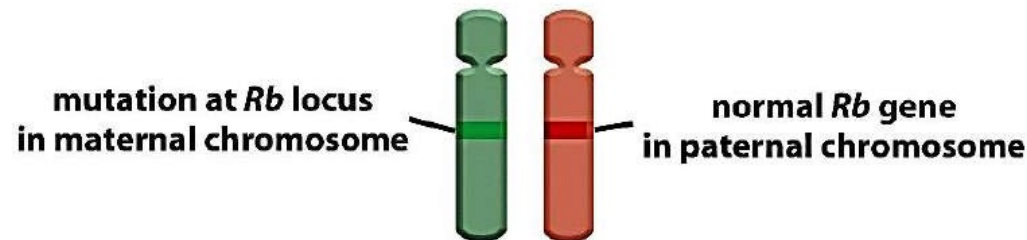


hemizygoty

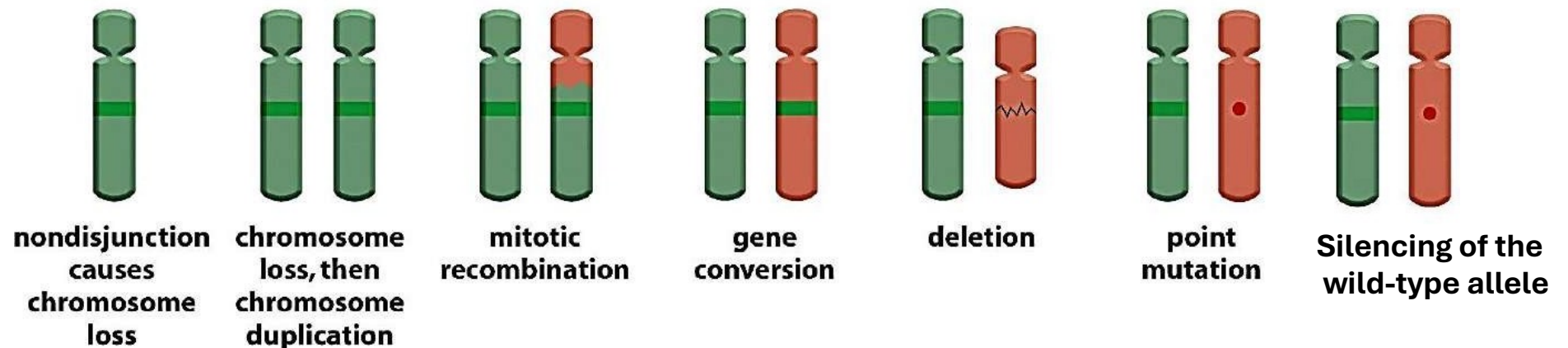
homozygoty

Possible ways to eliminate the wild-type allele

HEALTHY CELL WITH ONLY ONE NORMAL *Rb* GENE COPY



POSSIBLE WAYS OF ELIMINATING NORMAL *Rb* GENE

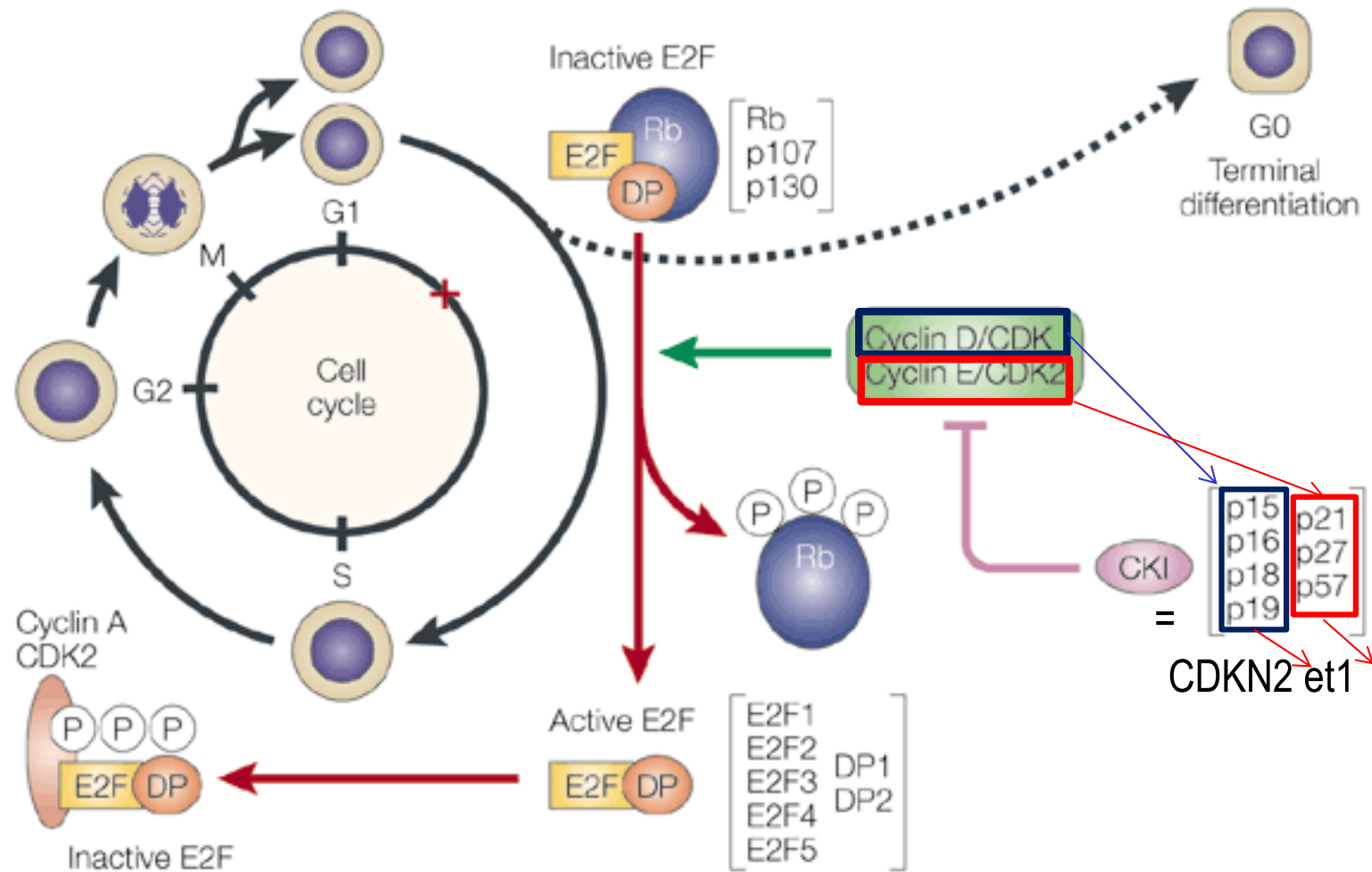


hemizygoty

homozygoty

epigenetic

Rb contrôle la progression du cycle en fixant (sous sa forme déphosphorylée)
et en inhibant E2F



Famille des protéines poche

E2F family binding

viral oncoprotein binding

pRb



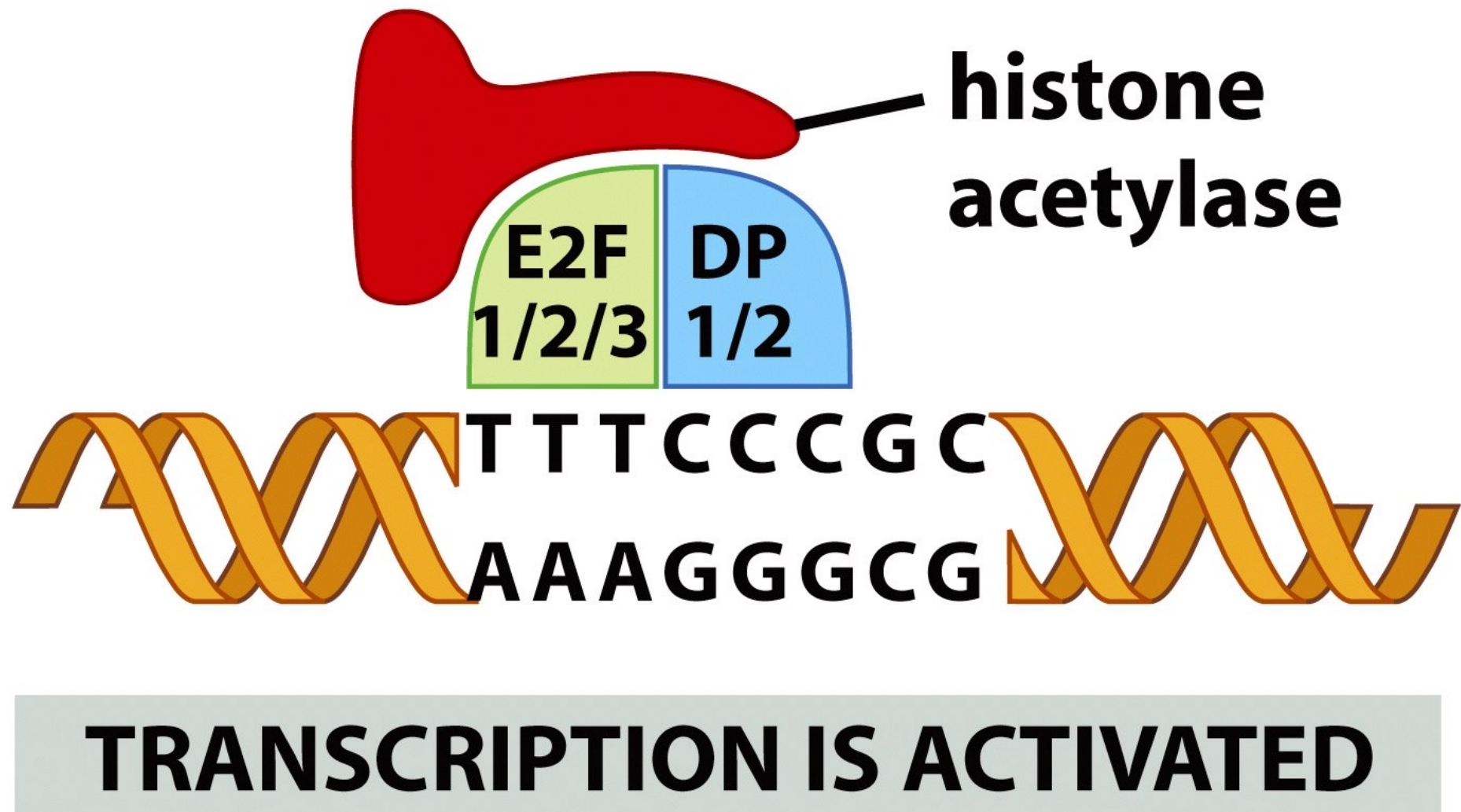
p107



p130



**cyclin A/E
binding site**



Rb associé aux histones deacetylases conduit à la répression transcriptionnelle de E2F

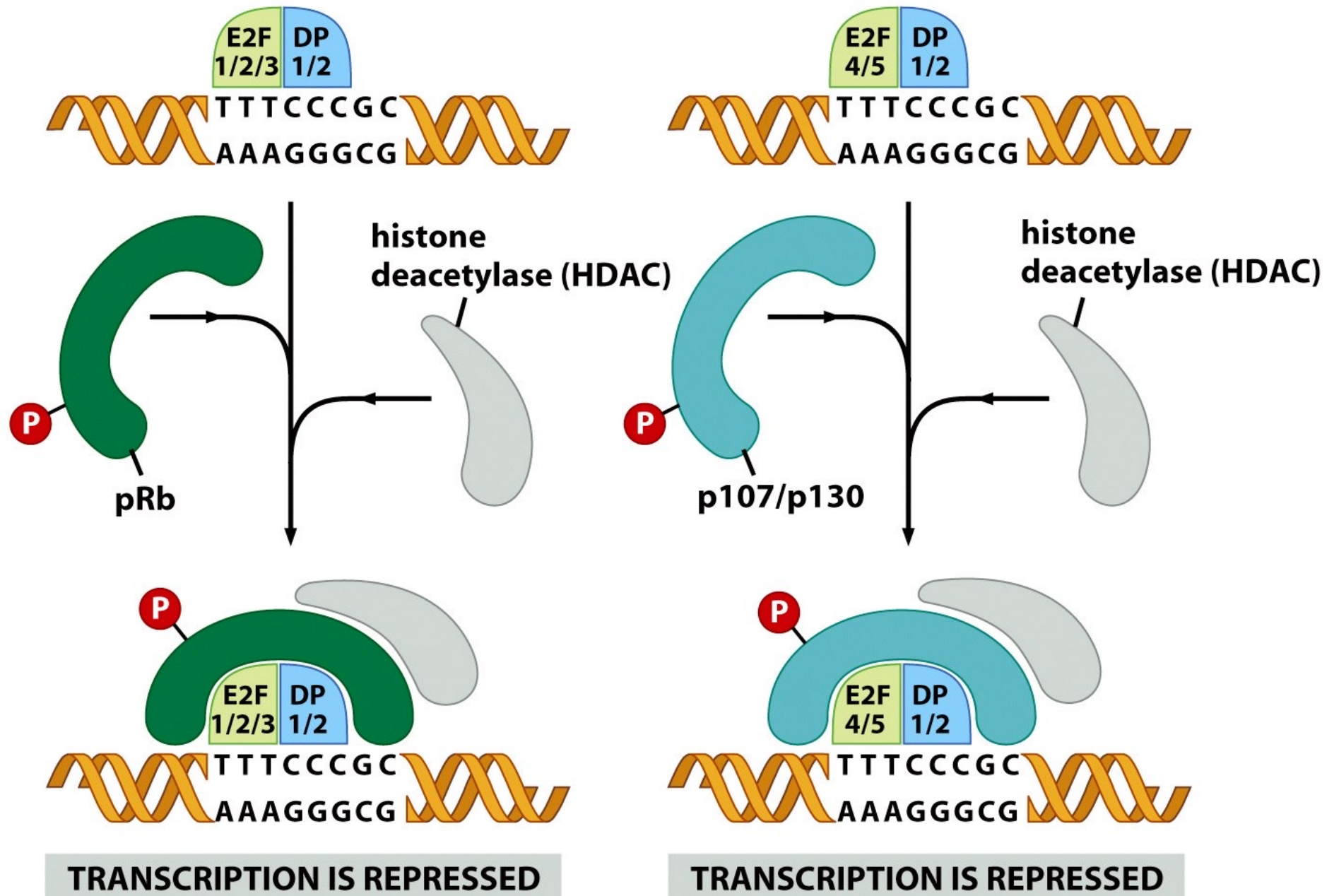
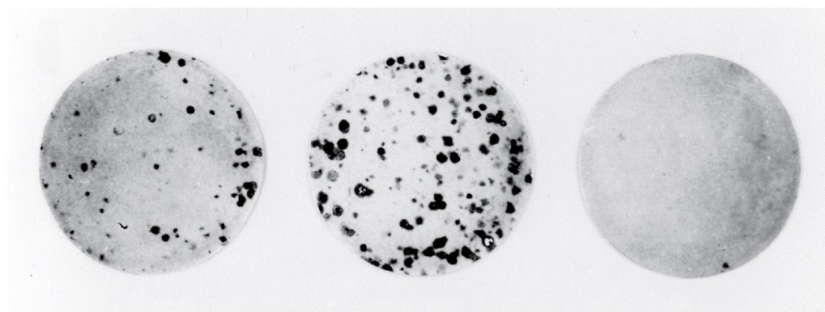
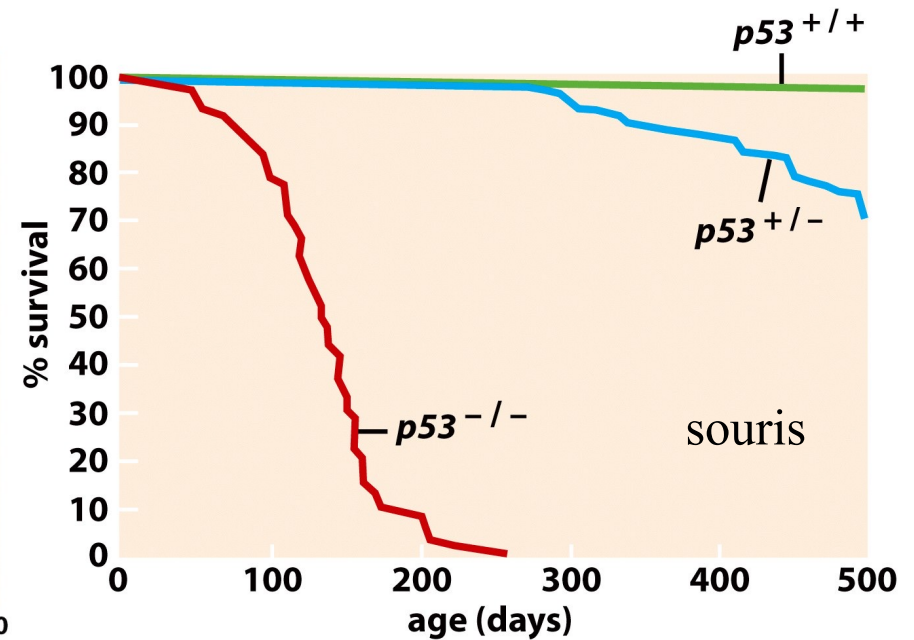
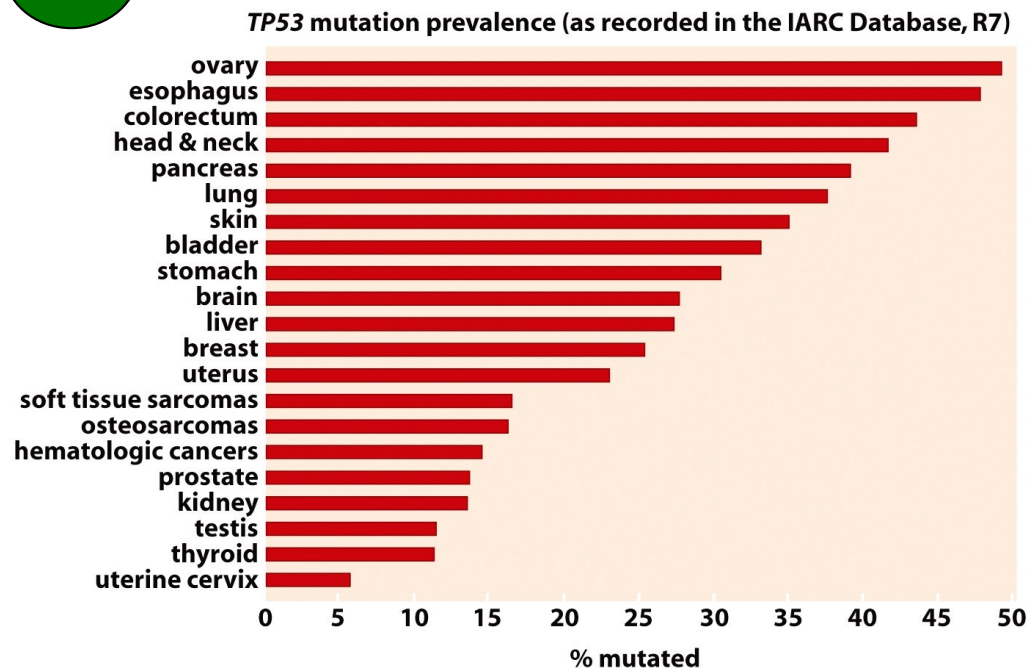
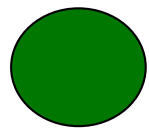


Figure 8.24a *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

B/ Le gène suppresseur de tumeur TP53

P53 est un facteur de transcription tetramérique fréquemment muté dans les tumeurs



ras + p53 deletion mutant *ras* + p53 val-135 point mutant *ras* + wild-type p53

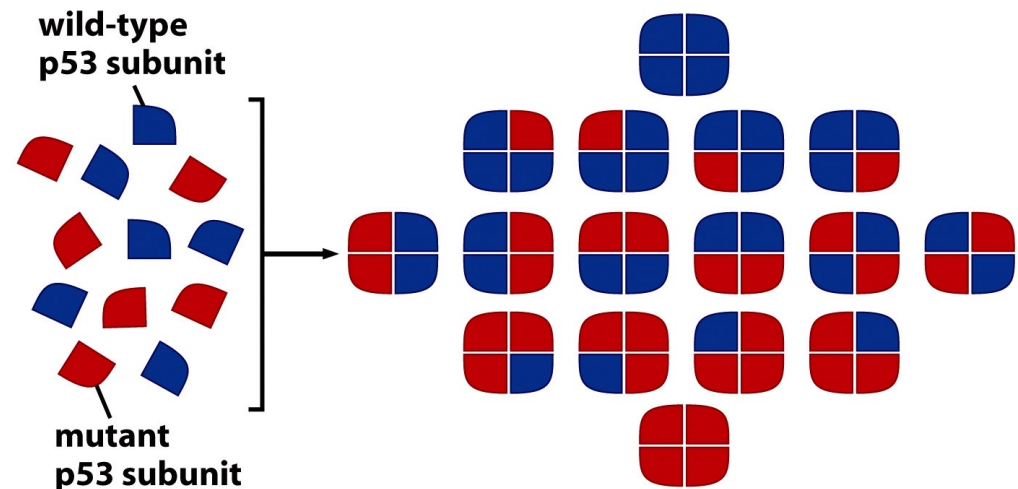
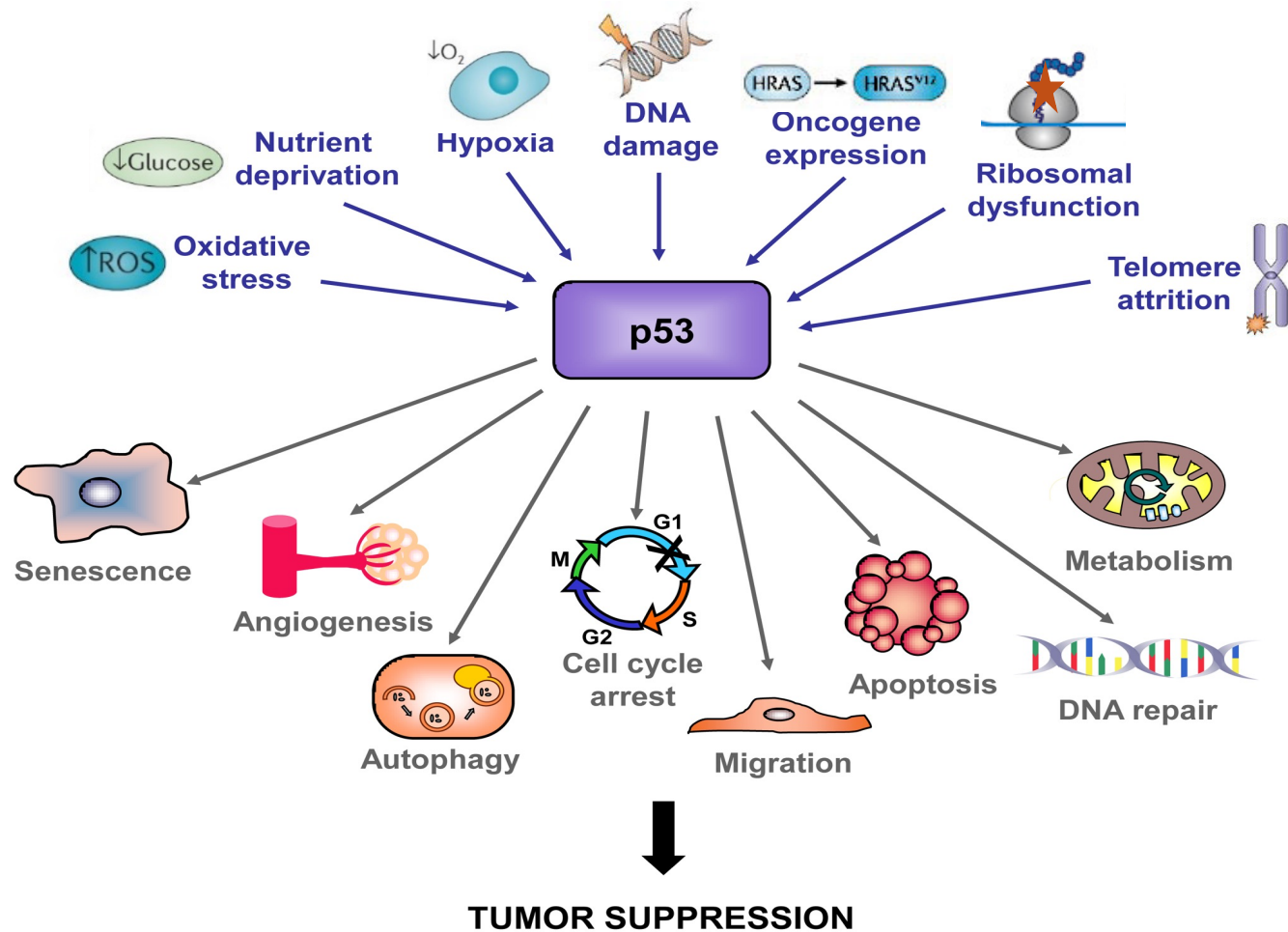
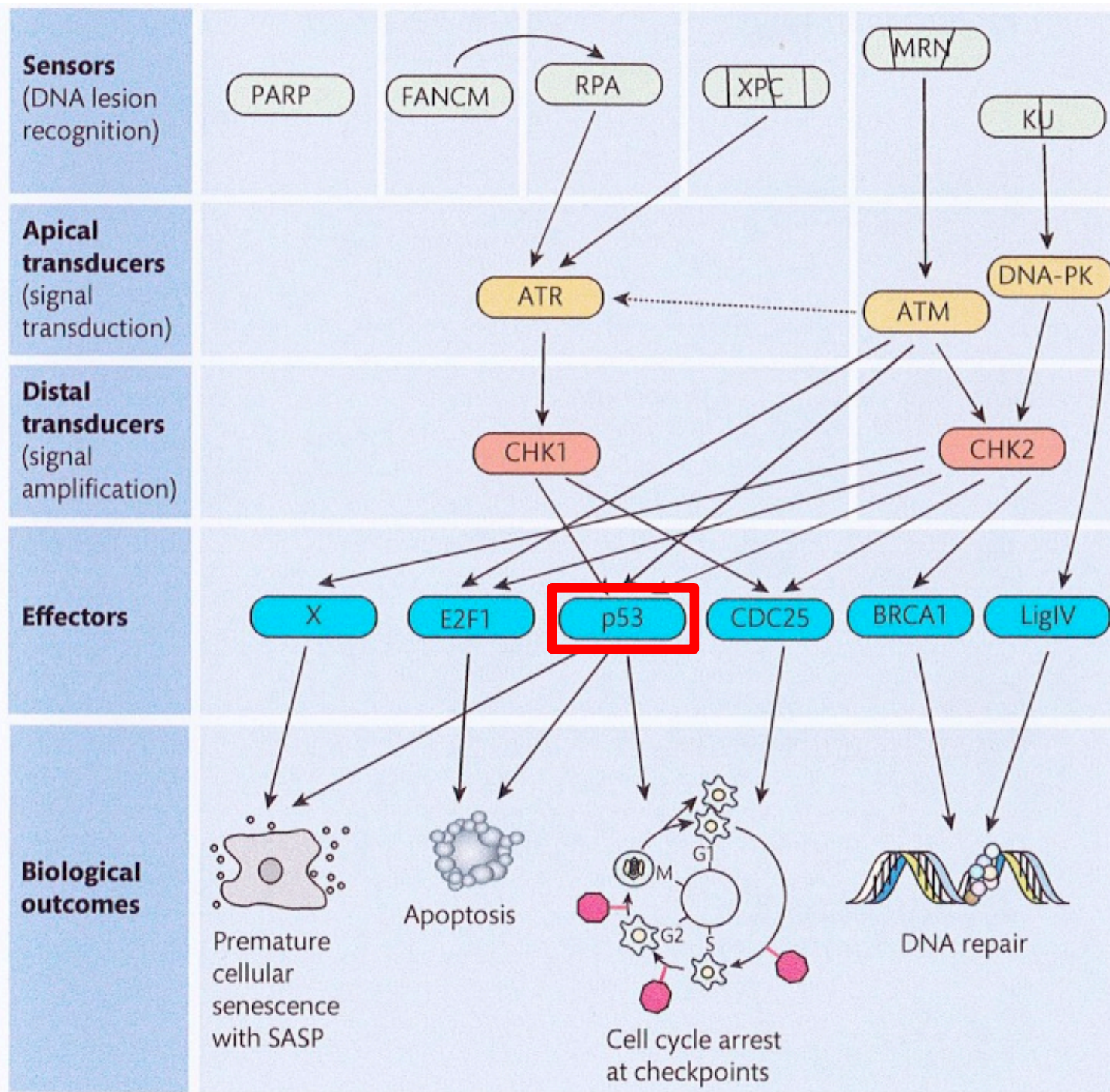


Figure 9.4 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

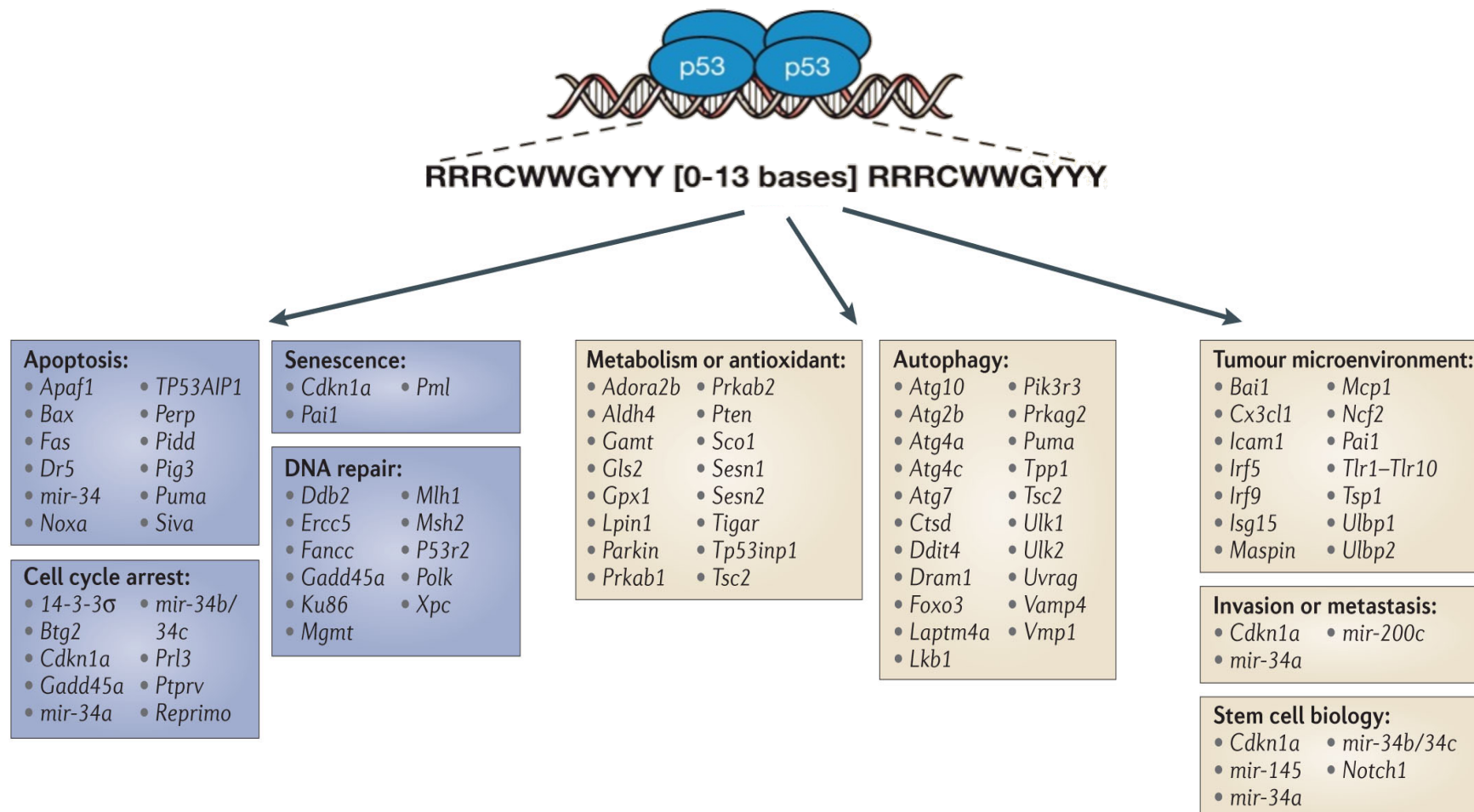
p53: the guardian of the genome





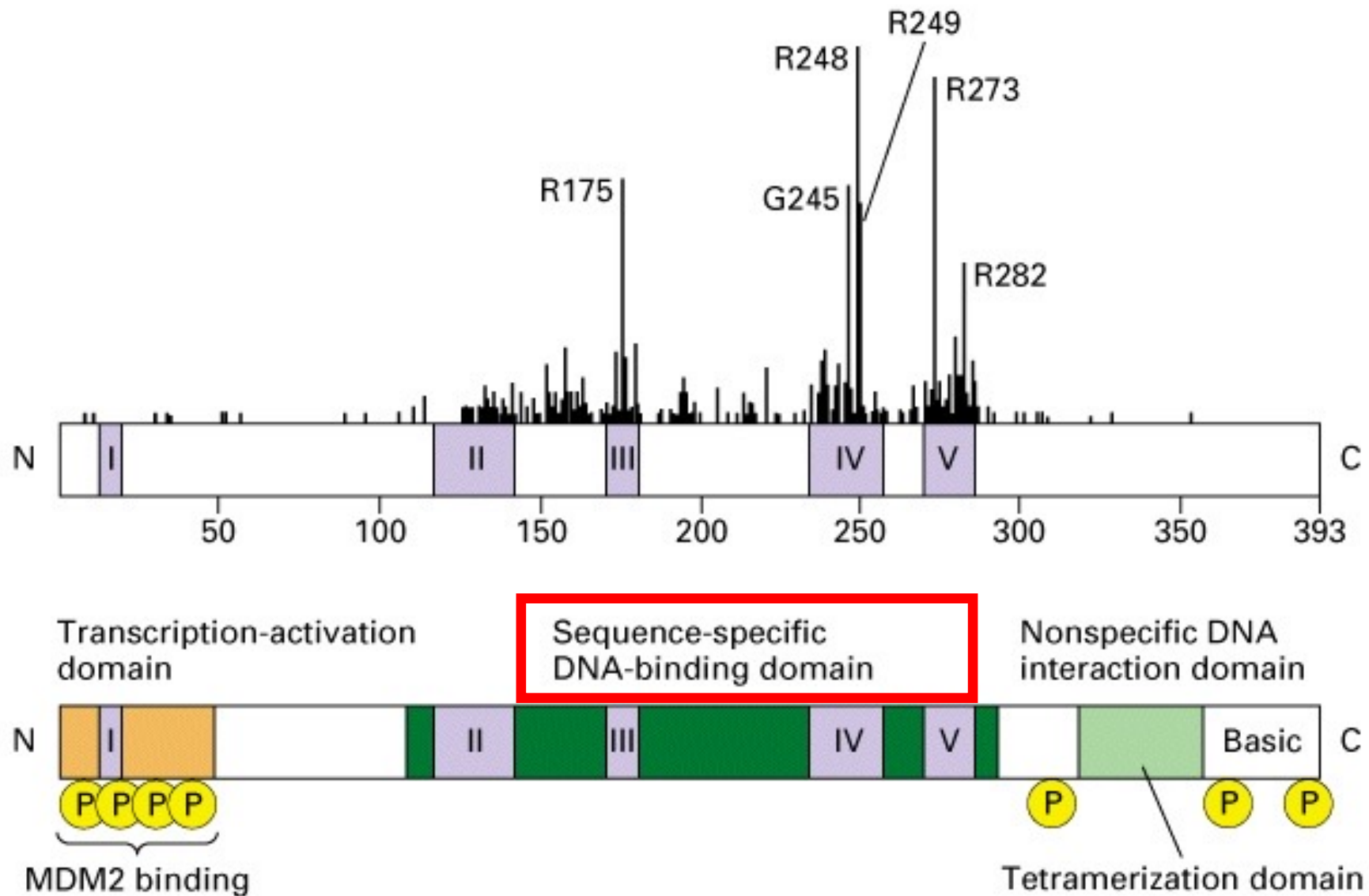
p53 is a major tumor suppressor gene

- Encodes a **transcription factor** with more than 500 target genes, which will orchestrate the cellular answers to different cell stress.

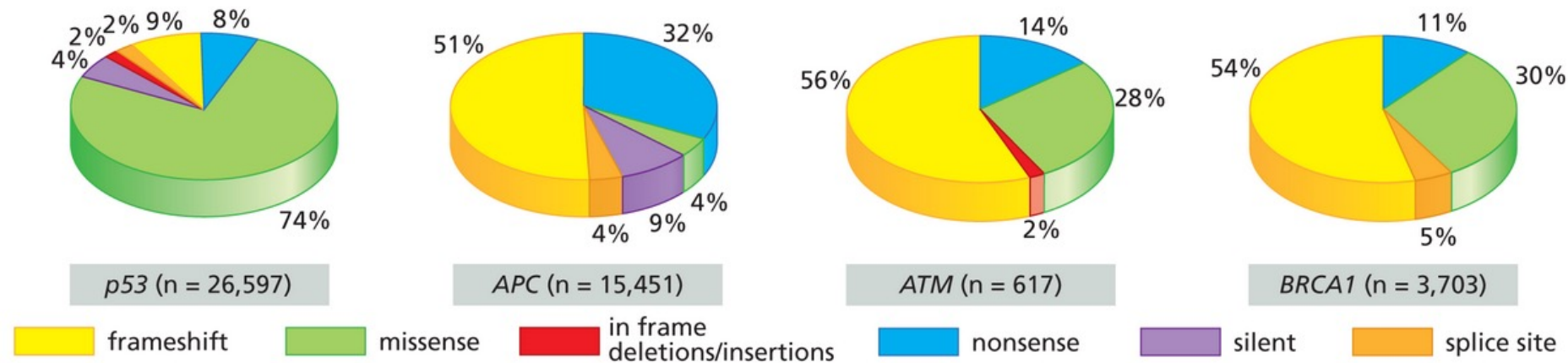


When p53 is mutated (or inactive) cells with damaged DNA survive and proliferate.

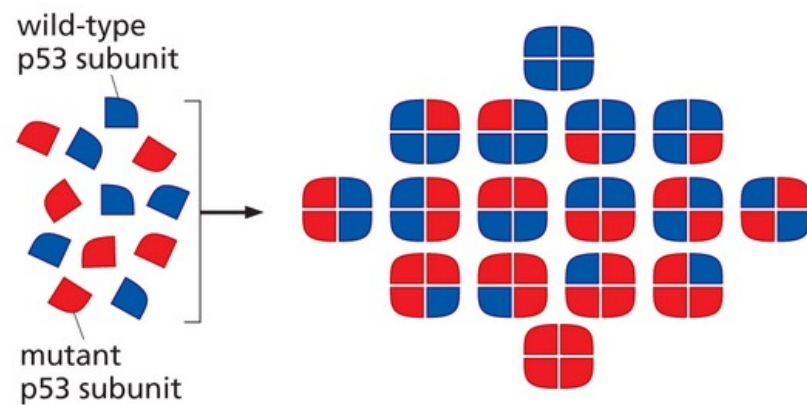
p53 mutations concentrate in its DNA binding domain



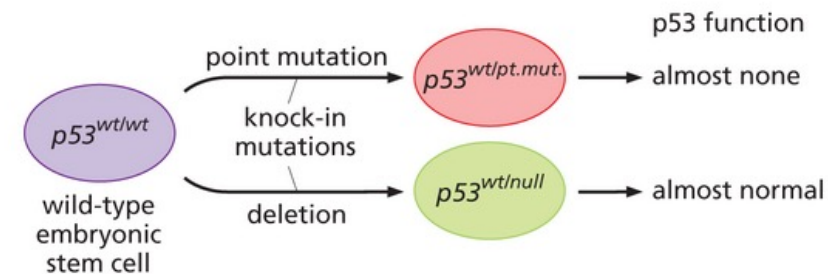
Les mutations de p53 ont souvent un effet de type dominant négatif



(A)

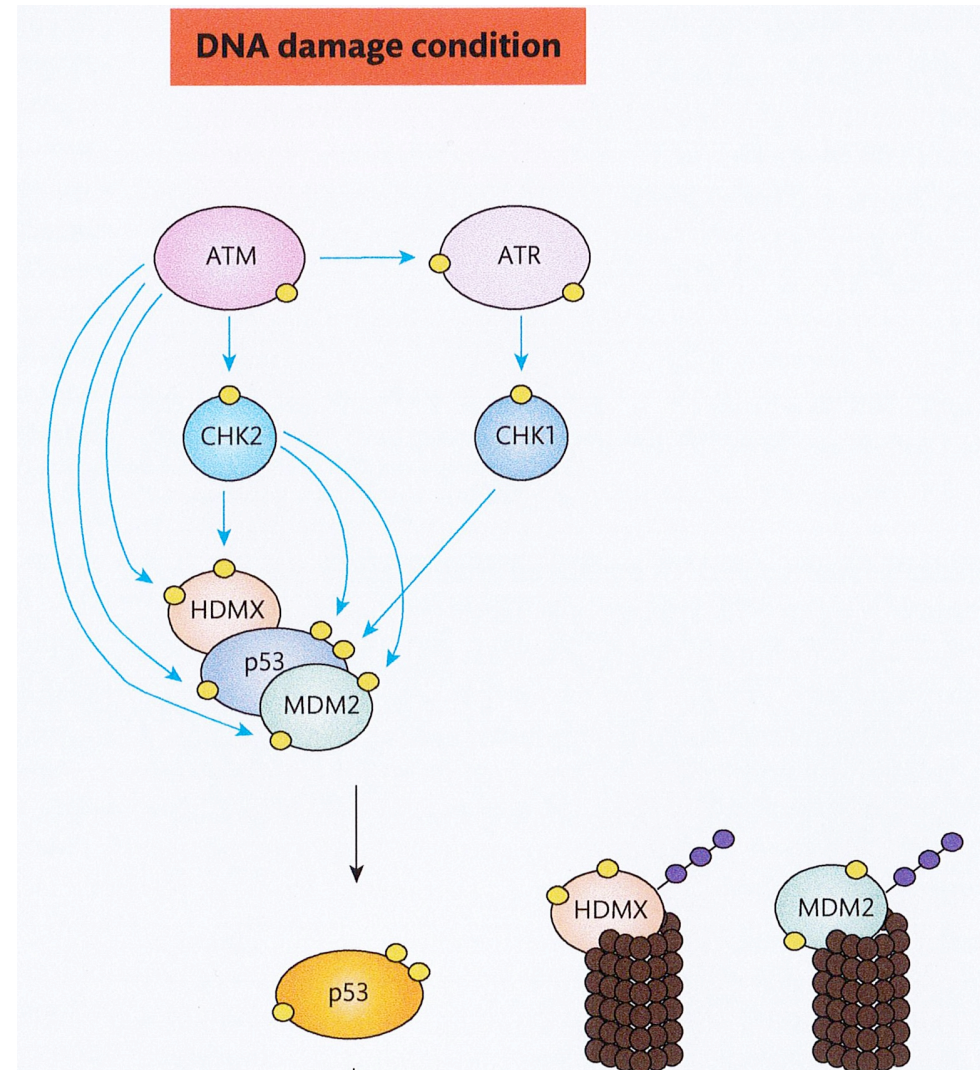
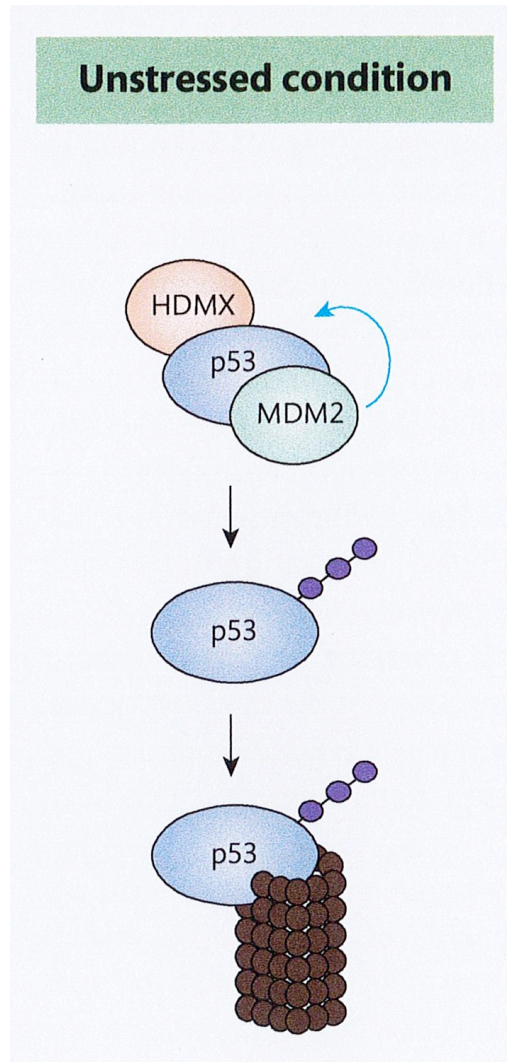


(B)

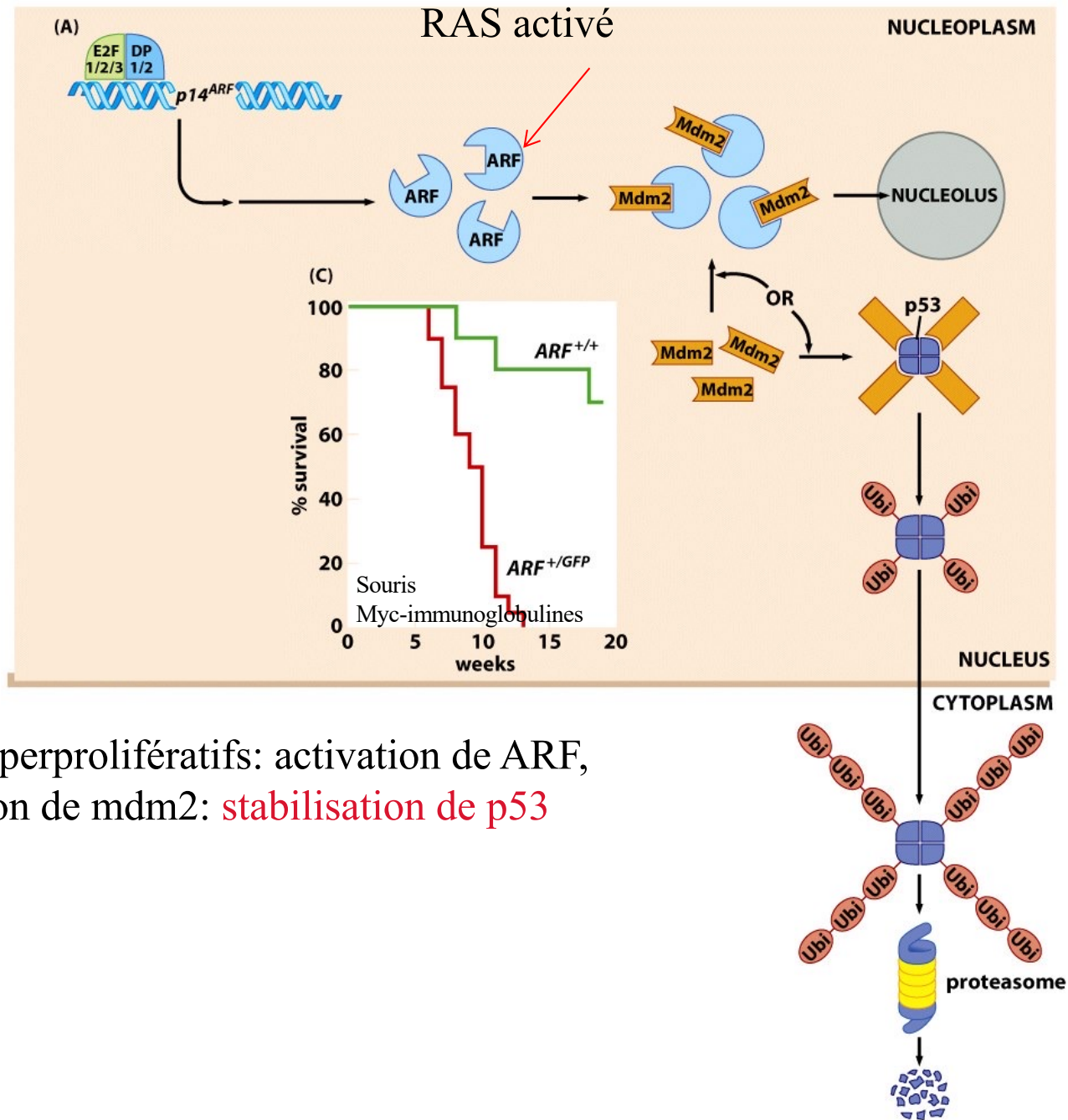


(C)

MDM2 and MDM4: the major p53 regulators are often overexpressed in cancer cells with a wild-type TP53 gene

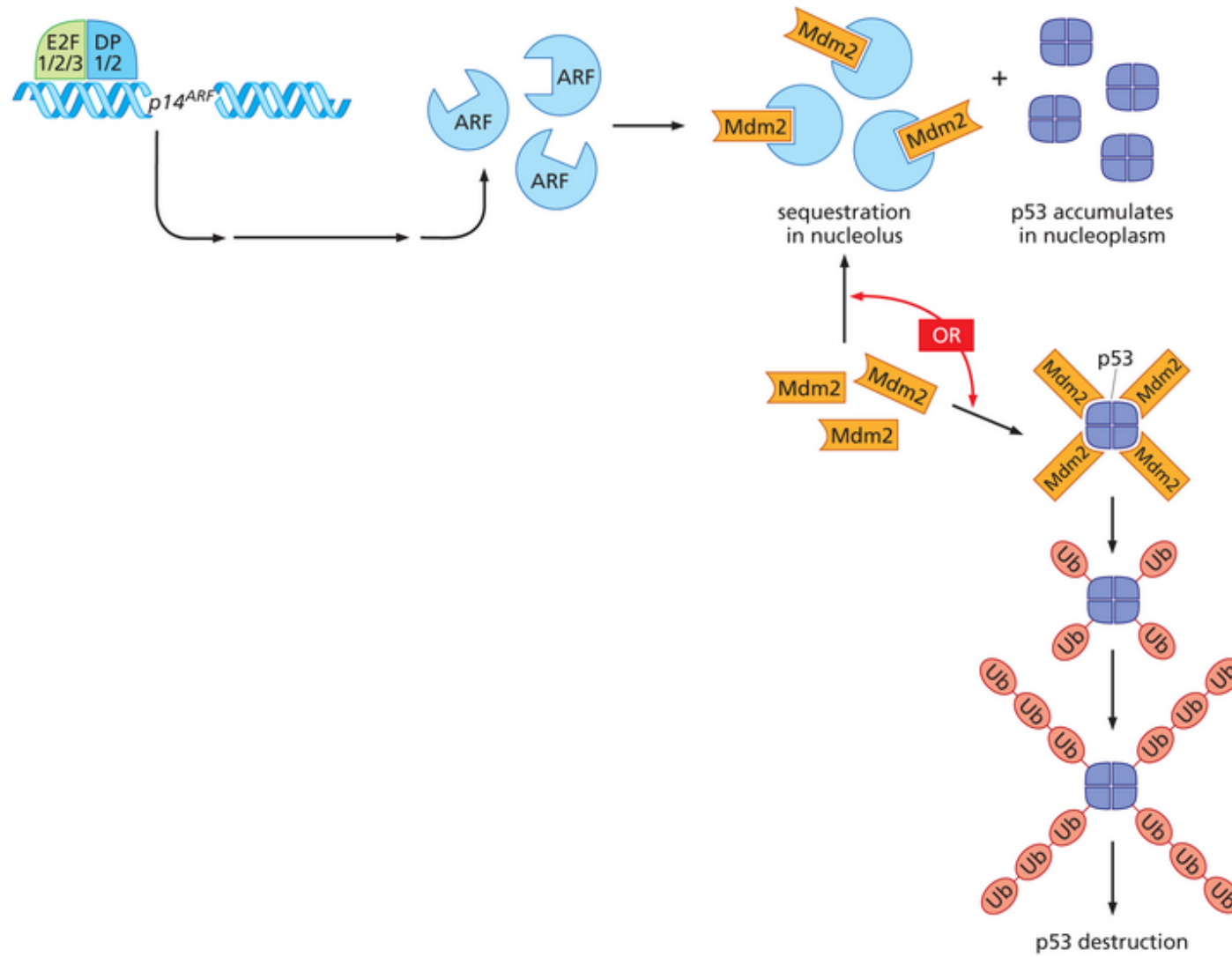


Contrôle du taux de p53 par ARF

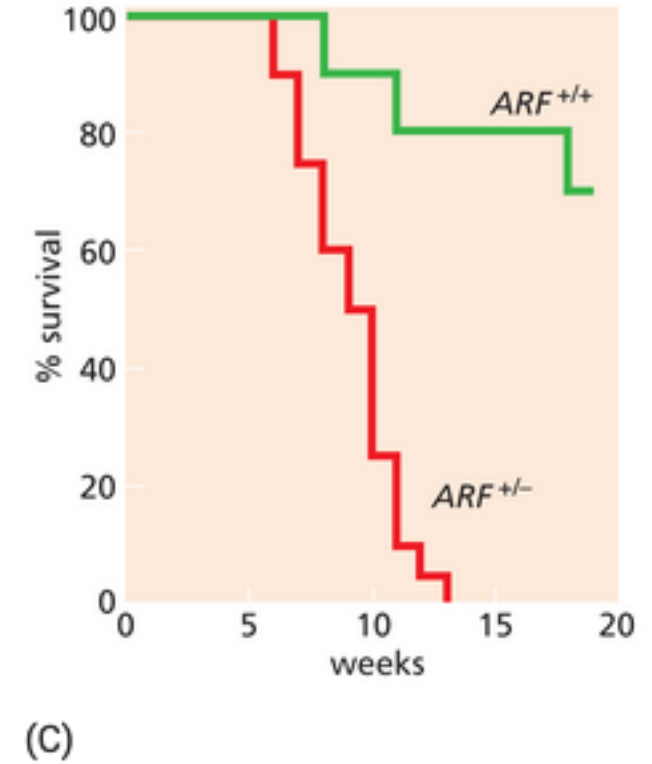
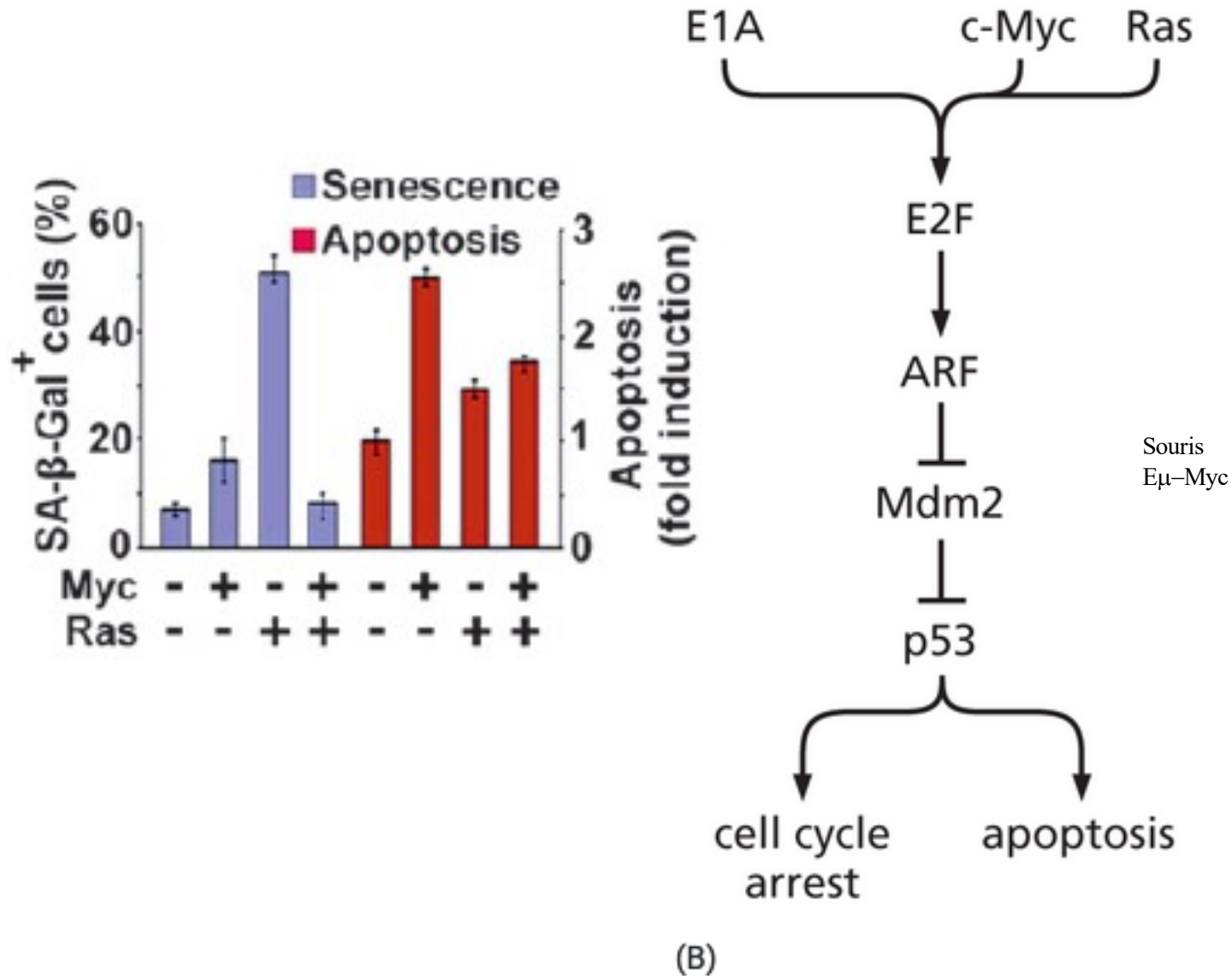


Signaux hyperprolifératifs: activation de ARF,
sequestration de mdm2: **stabilisation de p53**

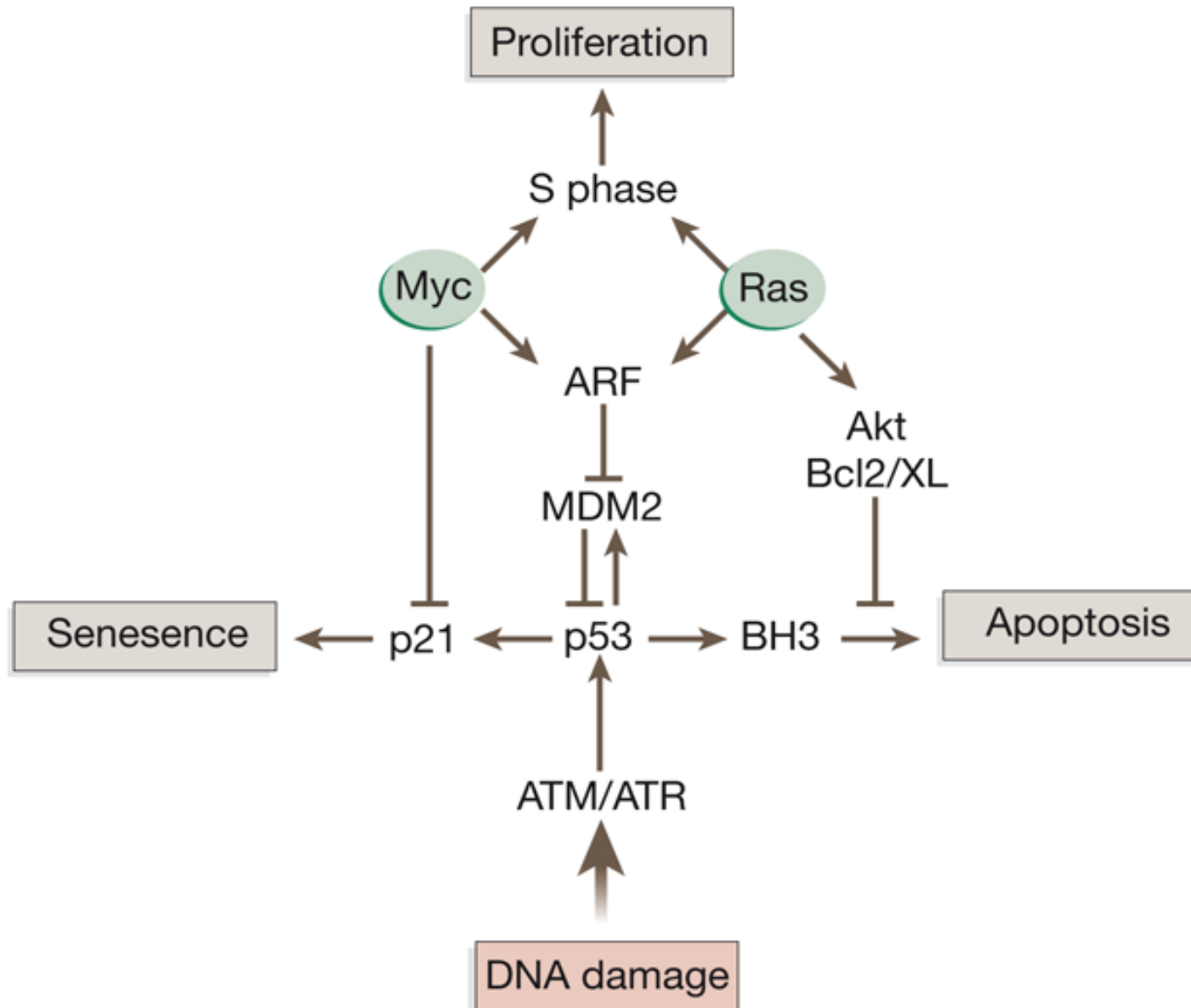
Contrôle du taux de p53 par ARF



Une voie E2F/ARF/MDM2/P53 permet l'élimination de cellules soumises à un stress oncogénique



Activating mutations of oncogenes
and inactivating mutations of tumor suppressor genes
cooperate to promote tumor progression



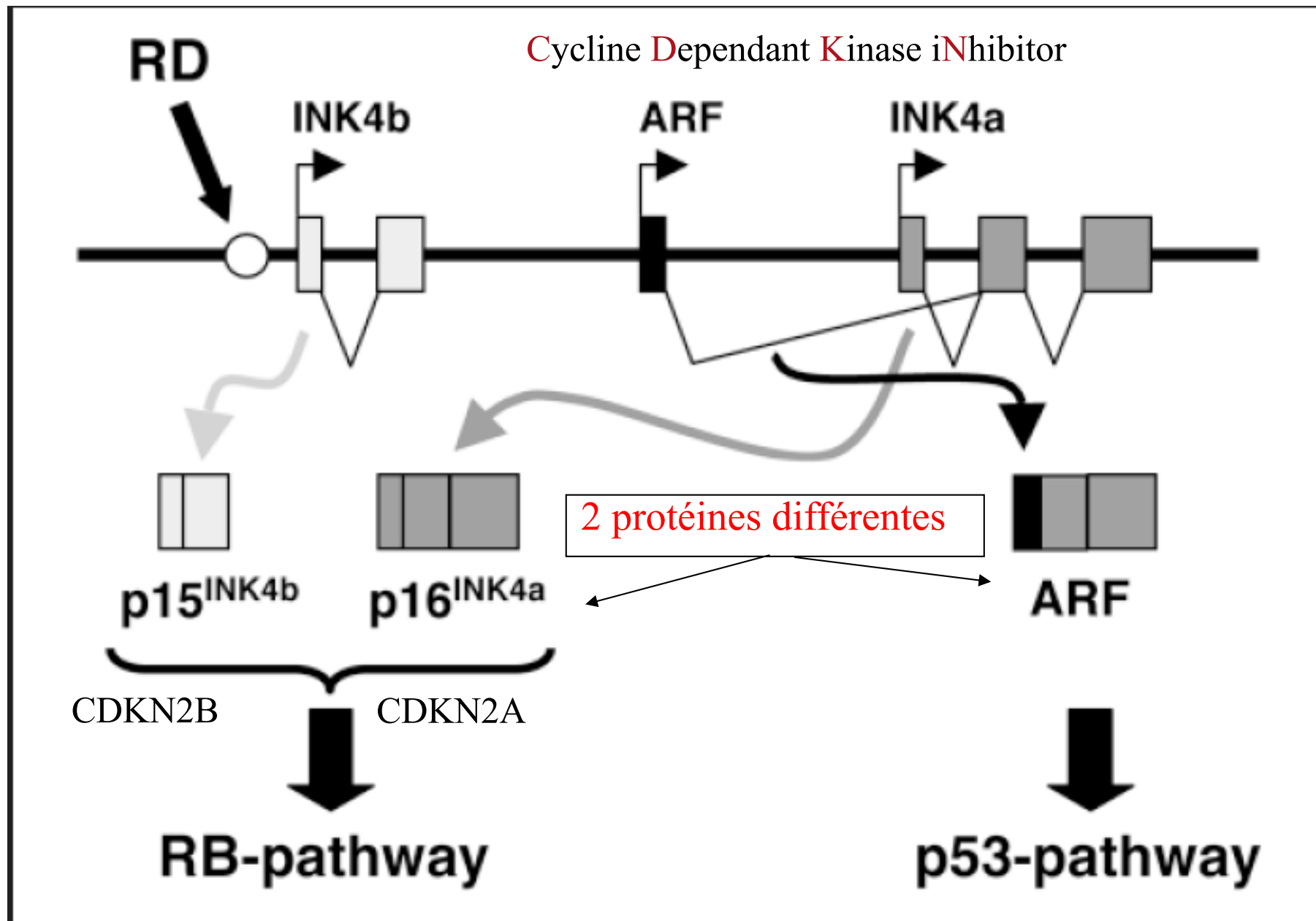
Scott and al, *Nature* 2004.

C/ Locus CDKN2a & régulation de Rb & p53

Locus INK4 et ARF= locus CDKN2A; 9p21

INK4b=CDKN2B

Existe aussi INK4C= CDKN2C; 1p32 et INK4D=CDKN2D; 19p13



D/ Rb, p53 & les cancers héréditaires rares

Remarques introductives

- Le cancer résulte toujours d'une atteinte des gènes:

1/ Les mutations peuvent être acquises

(ex: en réponse aux UV ou à certains composés de la fumée de cigarette!)

2/ Les mutations peuvent être transmises (mutations germinales)

- Seulement 5 à 10% des cas de cancers impliquent une prédisposition héréditaire.
- Une mutation héritée est rarement un événement suffisant pour déclencher à elle seule la survenue d'un cancer. Le plus souvent c'est "juste" un facteur de prédisposition (risque accru!).

Remarques introductives

- Une prédisposition au cancer est principalement causée par la perte d'un gène suppresseur de tumeur plutôt que par l'activation d'un oncogène.
- L'individu atteint hérite un allèle muté de l'un de ses parents et la transformation requiert la perte somatique de l'allèle sauvage.

Remarque: Comme le taux d'inactivation d'un unique allèle est supérieur au taux de mutation indépendante de deux allèles, l'incidence de cancers chez les porteurs d'un allèle muté est supérieur à celui observé dans la population générale.

Notion de cancer héréditaire

Cancer sporadique vs. héréditaire

- Cancer sporadique : mutations présentes uniquement dans les cellules tumorales (mutations somatiques)

⇒ non transmissibles

- Cancer héréditaire : 1 mutation présente dans toutes les cellules (mutation germinale)

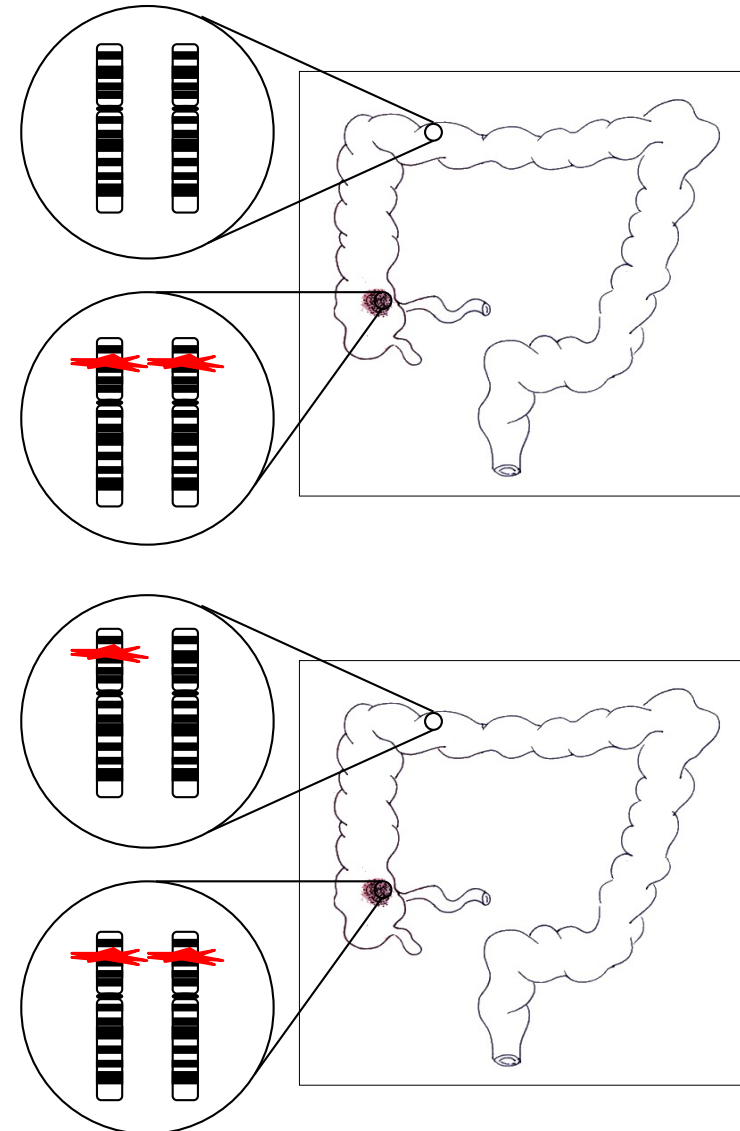
⇒ transmissible

⇒ 1^{ère} étape vers le cancer

+ mutations somatiques

dans la tumeur

⇒ non transmissibles



Notion de cancer héréditaire

Historique

- 1880' s : Description de la Polypose Adénomateuse Familiale (FAP). Syndromes de cancers héréditaires considérés comme syndromes rares. Cripps WH. 1882. Smith T. 1887
- 1960' s : Etude cas-contrôle sur familles avec liaison au cancer du colon et de l'estomac. Notion de facteur de risque augmenté pour les apparentés. Macklin MT. 1960
Etudes familiales suggèrent le mode de transmission autosomique dominante (carcinomes du sein de l'ovaire et du colon). Très controversé. Lynch HT et al. 1966
- 1970' s : Hypothèse de Knudson, Rb1 est un gène suppresseur du rétinoblastome Knudson AG Jr. 1971. Comings DE. 1973.
- 1980' s : Liaison du gène de la FAP au chromosome 5q. Herrera L et al, 1986
Localisation en 5q21. Leppert M, et al. 1987. Kinzler KW, et al. 1991
Développement de la biologie moléculaire.
- 1990-2000' s : Essor des liens entre mutations germinales et divers types de cancers (indénombrables, 1 par mois).

Notion de cancer héréditaire

Cancer héréditaire vs. Familial

- Cancer héréditaire : Mutations constitutives d'un gène suppresseur de tumeur ou de réparation de l'ADN (souvent identiques aux gènes mutés dans les cancers sporadiques)
 - Risque augmenté de développer un cancer.
 - Age de survenue avancé.
 - USA 2002, 1 284 900 nouveaux cas de cancer
environ 10% sont héréditaires (100 000)

- Cancer familial : Association de contexte génétique et environnemental au sein d'une famille favorisant la survenue d'un type de cancer.
 - Quelques apparentés ont développé un cancer.
 - Risque faiblement augmenté de développer un cancer.
 - Pourrait être un cancer héréditaire dont le gène muté n'est pas identifié?

Notion de cancer héréditaire

- ❑ Même cancer ou forme liée chez 2 apparentés ou plus
- ❑ Survenue précoce du cancer chez un apparenté ou plus
- ❑ Tumeurs bilatérales dans les organes pairs
- ❑ Présence de tumeurs primaires multiples chez un patient
- ❑ Les tumeurs multiples sont décrites dans un syndrome associé au cancer

Cancer héréditaires rares

L' incidence est souvent inconnue et les types de cancers impliqués sont rares dans la population générale.

Rétinoblastome familial	RB1	13q14
-------------------------	-----	-------

Rétinoblastome

■ Incidence

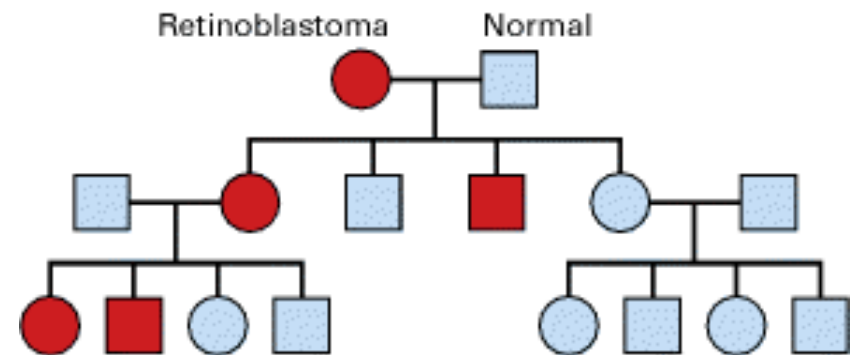
Forme rare de tumeur de l'œil (1/20 000)
Survenue précoce : naissance à jeune adulte

■ Forme sporadique

Toujours unilatérale
60 % des cas de rétinoblastomes
Médiane 22 ans

■ Forme héréditaire

Autosomique dominante
40 % des cas de rétinoblastomes
80 % bilatérales
15 % unilatérales
5 % asymptomatiques
Risque élevé d'autres tumeurs primaires
Survenue dès la naissance (médiane 6 mois)



Rétinoblastome

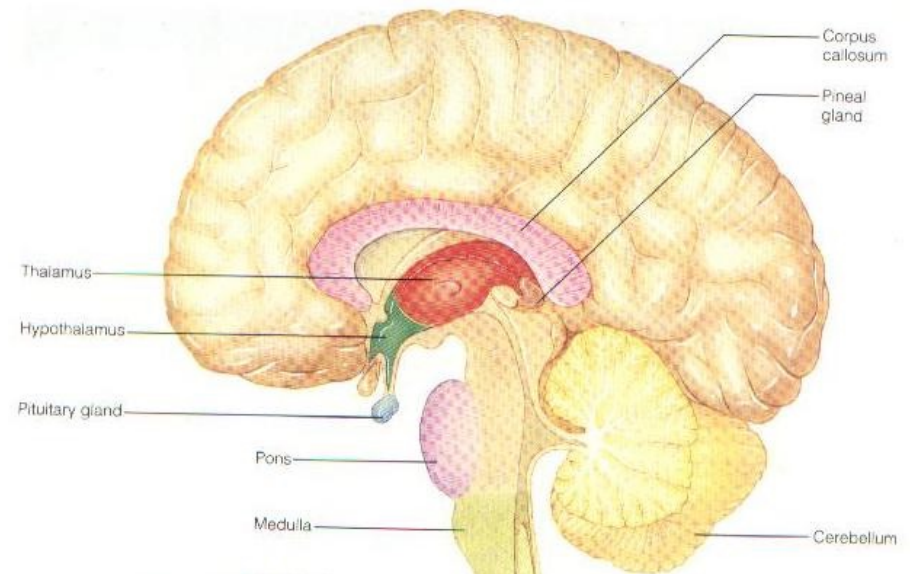
■ Tumeurs

Rétinoblastomes : développés dans 90% des patients porteurs d'une mutation germinale

Tumeurs de la glande pinéale (épiphyse) Rétinoblastome trilatéral
Survenue plus tardive (2 à 5 ans)

Ostéosarcomes

Risque x500 chez les patients atteints de rétinoblastome bilatéral



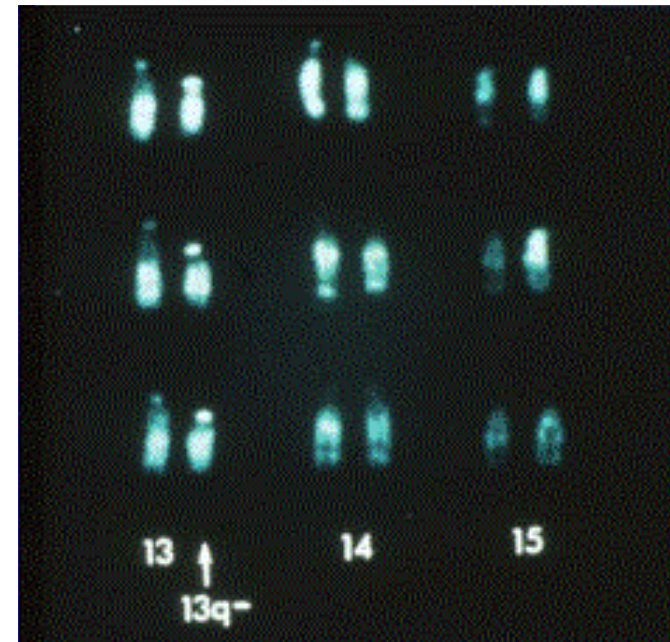
Rétinoblastome

■ Identification

1er gène suppresseur de tumeur (Knudson 1971) : "two-hit-model" 2 évènements 1 délétion et une mutation.

Perte du bras long du 13 (13q14) dans les tumeurs des familles RB.

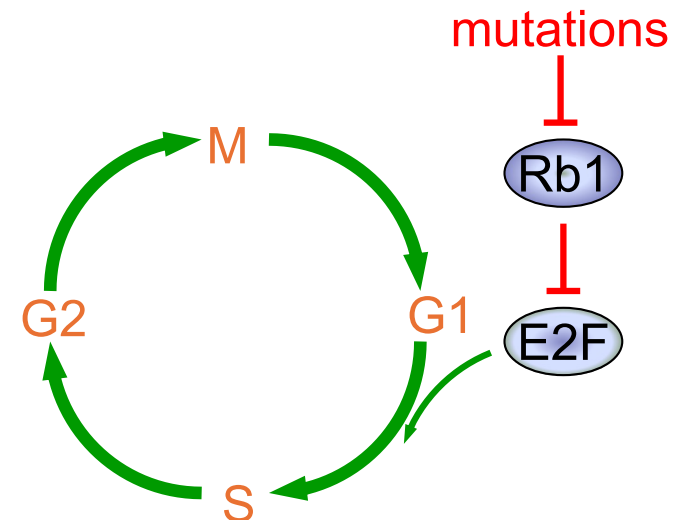
Identification du gène par délétion dans les cas familiaux + allélotypes tumeurs sporadiques. (Friend SH et al. 1986; Fung YK et al. 1987)



■ Rôle de Rb1

Interrupteur moléculaire de l'entrée en phase S. Dépendant de son statut de phosphorylation.

Perte de fonction de Rb $\Rightarrow$ prolifération incontrôlée $\Rightarrow$ tumorigenèse



Cancer héréditaires rares

L' incidence est souvent inconnue et les types de cancers impliqués sont rares dans la population générale.

Rétinoblastome familial	RB1	13q14
Syndrome de Li-Fraumeni	TP53	17p13

Syndrome Li-Fraumeni

■ Définition

Syndrome rare défini par des critères diagnostiques :

- un individu atteint de sarcome avant l'âge de 45 ans,
- un apparenté au premier degré présentant un cancer avant l'âge de 45 ans,
- un parent au premier ou second degré présentant soit un cancer avant l'âge de 45 ans, soit un sarcome à tout âge. (Li et Fraumeni, 1969)

■ Incidence

Inconnue. Environ 400 familles diagnostiquées dans la littérature scientifique.

Syndrome Li-Fraumeni

Spectre tumoral

Sarcomes des tissus mous (rhabdomyosarcomes, léiomyosarcomes, liposarcomes, fibrosarcomes) : Prevalence in LFS 18-27%

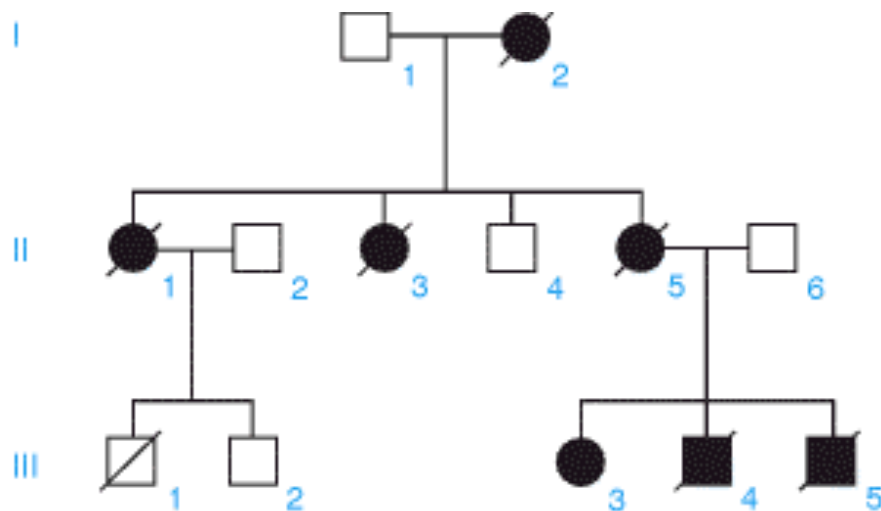
Cancers du sein: Prevalence in LFS 27-31%

Ostéosarcomes: Prevalence in LFS 13-16%

(remarque: Prevalence pop. Gen. 5 cas/million/an)

Tumeurs cérébrales (glioblastomes, médulloblastomes, épendymomes, tumeurs des plexus choroïdes): Prevalence in LFS 9-14%

Leucémies (aiguës lymphoblastiques ou myéloblastiques, myéloïdes chroniques) :Prevalence in LFS 2-4%



Tumeurs du sein (I2, 40 ans ; II3, 33 ans ; II5, 32 ans)

Tumeur du cerveau (II1, 35 ans)

Sarcome des tissus mous (II3, 19ans ; III5, 3ans)

Ostéosarcome (III3, 3 ans)

Leucémie (III4, 2 ans)

Syndrome Li-Fraumeni

Etiologie, bases moléculaires

Mutations constitutives du gène p53, tumeurs avec perte de l'allèle sauvage p53.

⇒ Inactivation du gène p53 nécessite 2 événements successifs (Malkin et al., 1990; Srivastava et al., 1990)

Altérations constitutives du gène p53 dans environ 60-80 % des familles atteintes (selon la définition classique!).

Gène de p53 muté dans environ 50 % des cancers humains.

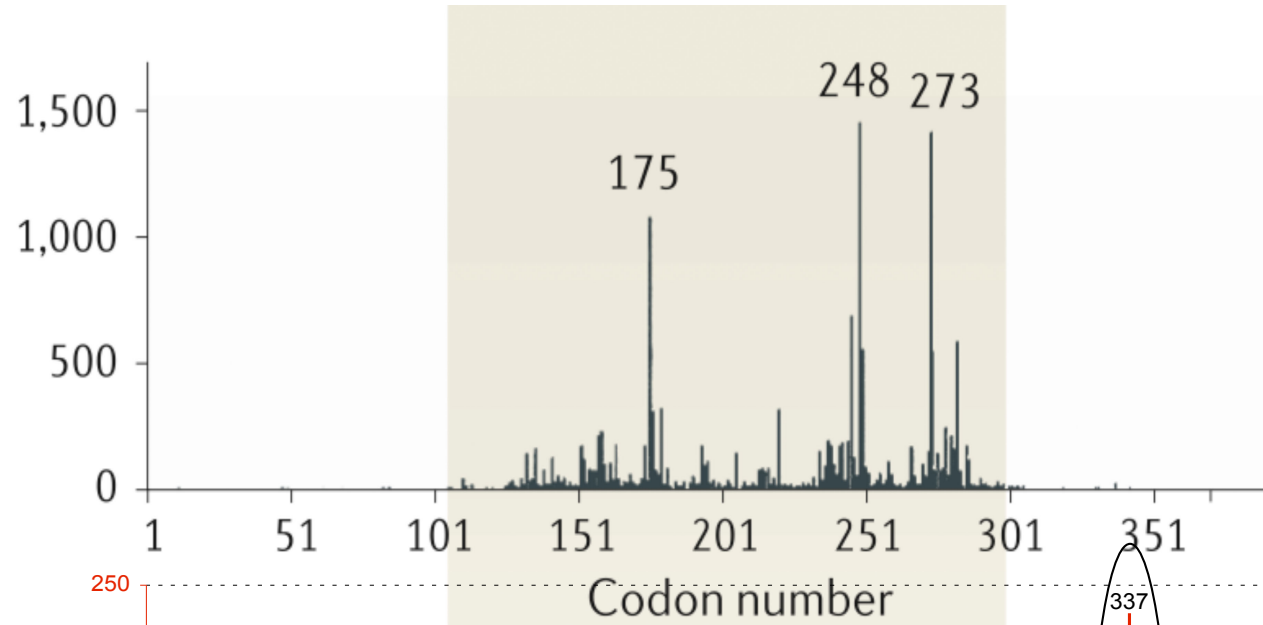
Responsabilité des mutations constitutives de p53 dans ce syndrome vérifiée par coségrégation des mutations et des cancers au sein de grandes généalogies

validée par des données expérimentales : mutations constitutives inactivent la fonction de la protéine p53

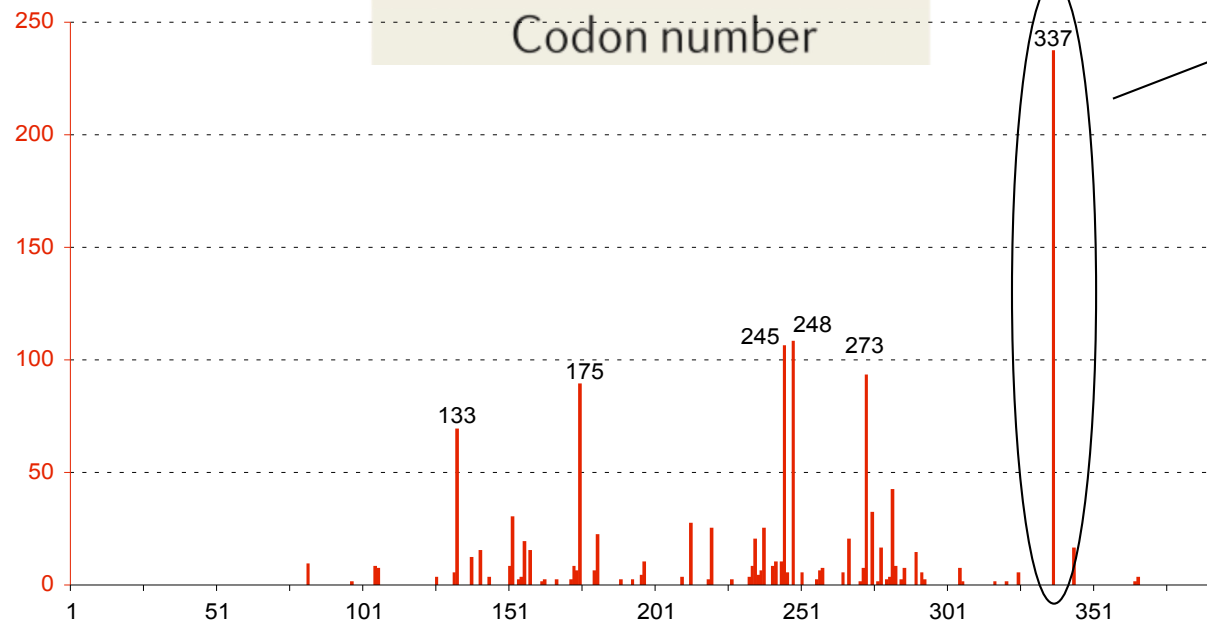
et d'autre part les souris hétérozygotes p53 (+/-) et homozygotes p53 (-/-), générées par recombinaison homologue, ont une incidence élevée de tumeurs malignes .

Comparaison des mutations faux-sens sporadiques et familiales de p53

Nb de tumeurs
(sporadiques)



Nb de tumeurs
(Li-Fraumeni)



Cortico-surrénales

Syndrome Li-Fraumeni (LFS) et Li-Fraumeni-like (LFL)

■ Définition - LFS:

Existence dans une même famille de:

- un individu atteint de sarcome avant l'âge de 45 ans
- + un parent au premier ou second degré présentant un sarcome avant l'âge de 45 ans
- + un apparenté au premier degré présentant un cancer avant l'âge de 45 ans

■ Définition - LFL:

Définition similaire, mais moins stricte:

- un individu atteint de sarcome avant l'âge de 45 ans
- + un parent au premier ou second degré présentant un sarcome, éventuellement à tout âge
- + un apparenté au premier degré présentant un cancer, éventuellement à tout âge

92% des familles LFS ont des mutations abolissant totalement la capacité transactivatrice de p53. Dans les familles LFL, ce type de mutation ne représente que 65 à 70% des familles.

Syndrome Li-Fraumeni (LFS) et Li-Fraumeni-like (LFL)

Dans les familles avec une mutation germinale de p53, les mutations abolissant totalement la capacité transactivatrice de p53 conduisent à des cancers plus précoces.

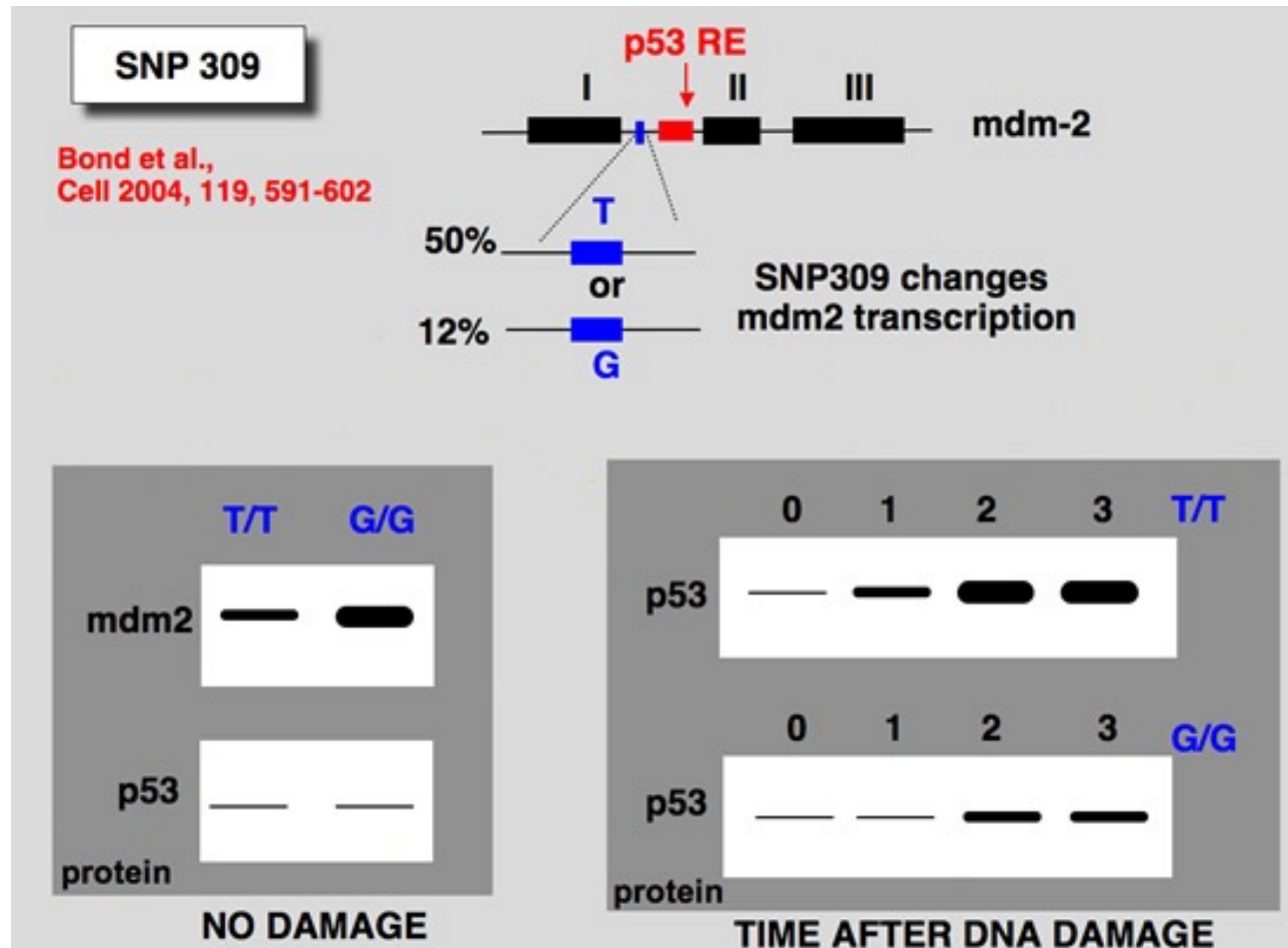
**Mean Age at Onset of Cancers in Relation to
Transactivation Property of Germline *TP53* Mutations***

Tumor site/type	Nonfunctional	Functional/partially functional
Breast carcinoma	33.6	43.2
Soft tissue sarcoma	17.4	22.5
Brain tumor	23.9	29.9
Bone sarcoma	16.9	17.7
Adrenocortical carcinoma	3.2	6.6
Lung carcinoma	46.1	48.8
Colorectal carcinoma	36.3	52.0

*Tumors in confirmed-carriers of a germline *TP53* mutation reported in the IARC *TP53* Database (R10, July 2005).

(Petitjean et al., *Hum. Mut.*, 2007)

Gènes modificateurs du phénotype LFS parmi les porteurs de mutation du gène TP53 transmise via la lignée germinale



Les individus G/G développent des tumeurs plus précocément que les individus T/T (ex STS et Breast cancer apparaissent en moyenne une dizaine d'année plus tôt!)

E/ Rb, p53 & les virus oncogènes

Tumor virus groups and associated cancers

Taxonomic group

- RNA viruses

Retroviruses

- DNA viruses

Hepadnaviruses (3Kb)

Polyomaviruses (5Kb)

Papillomaviruses (8Kb)

Adenoviruses (35Kb)

Herpesviruses (120Kb)

Poxviruses (150Kb)

Associated cancers

Hematopoietic cancers involving lymphoid, myeloid, or erythroid cells; various sarcoma and carcinoma

Hepatocellular carcinoma

Various solid tumors

papilloma and carcinoma

Various solid tumors

lymphoma and carcinoma

Myxoma and fibroma

Les fonctions des antigènes de tumeur du polyomavirus murin

Antigène LT essentiel pour l'immortalisation in vitro

- Initiation de la synthèse de l'ADN viral
- Régulation de la transcription
- Fixation de pRb et promotion de la transition G1→S
- Fixation de p300/CBP
- Fixation de p53
- Domaine chaperone

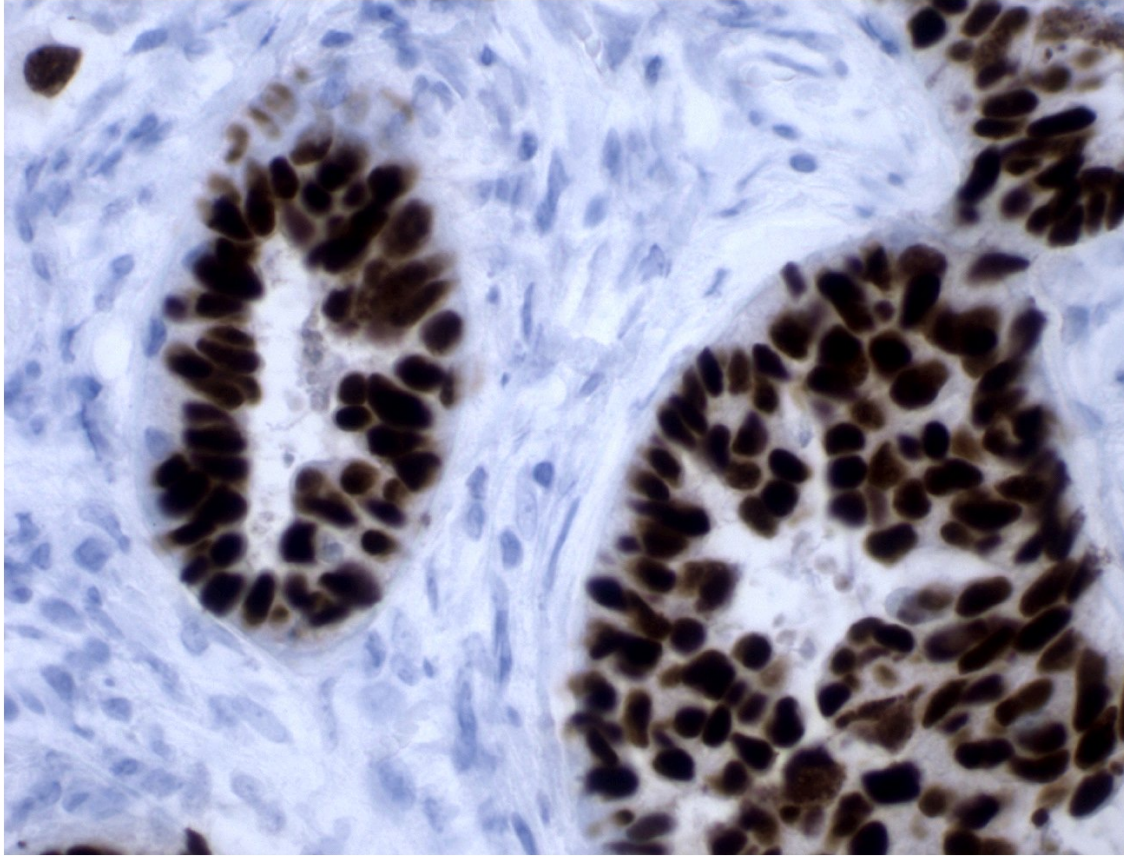
Antigène MT essentiel pour la transformation in vitro

- Fixe, active et devient un substrat pour pp60^{src}
- Activation de transducteurs de signaux à domaine SH2: PI3-kinase, SHC, PLC- γ

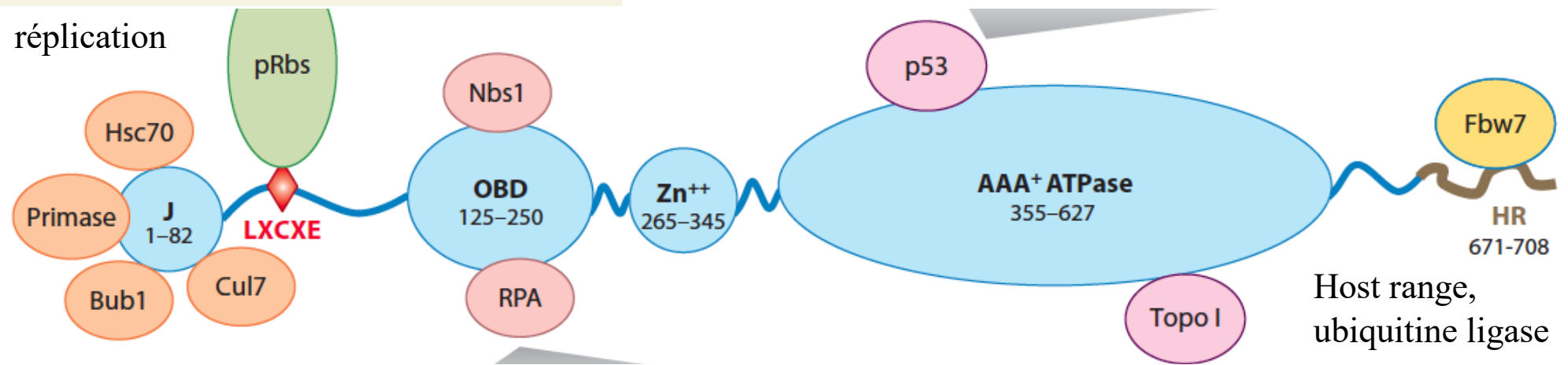
Antigène sT essentiel pour la transformation in vitro

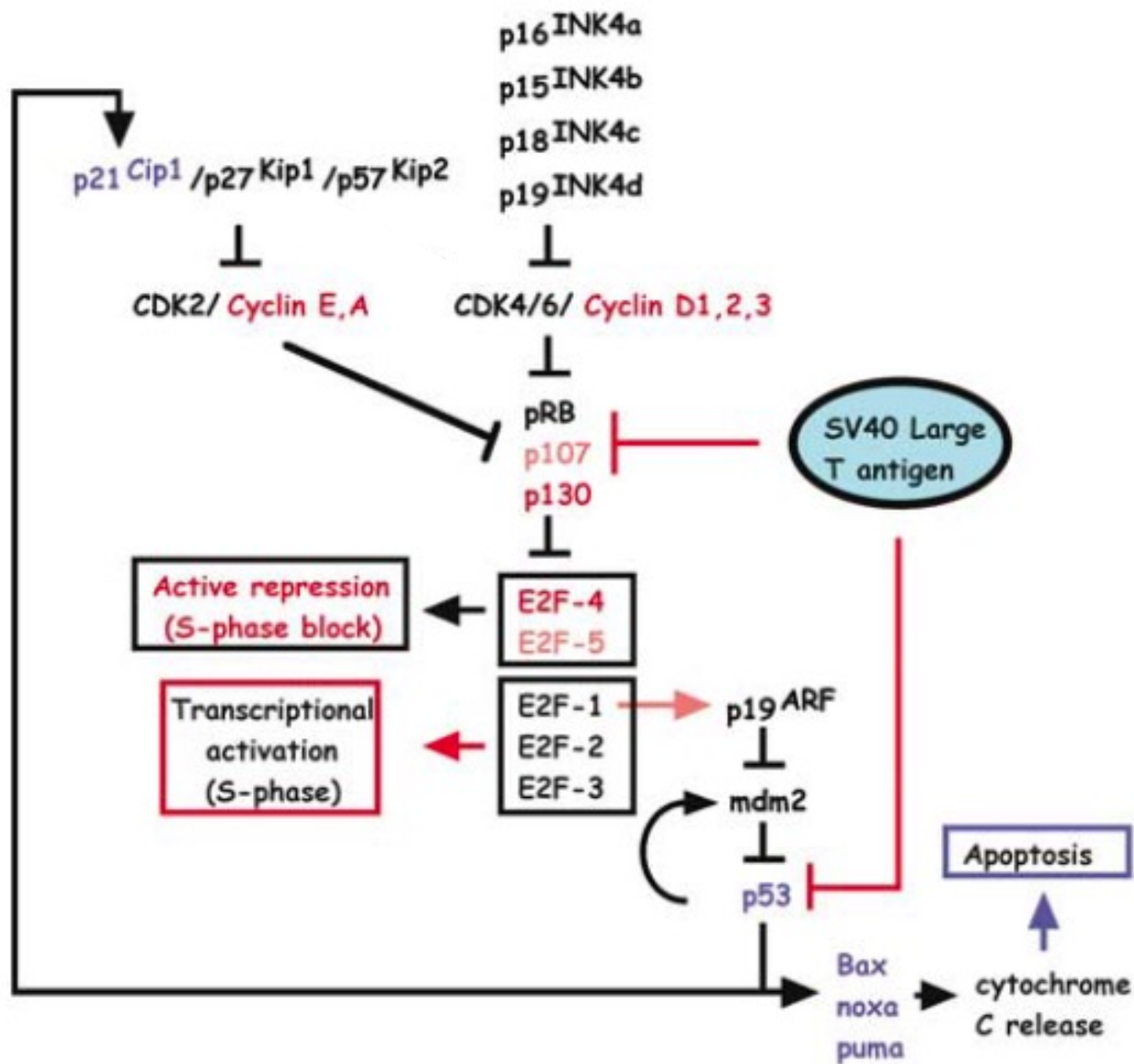
- Fixe et inhibe PP2A
- Active la voie MAP kinase
- Transactive les promoteurs de cyclines

Detection de la protéine Grand T du virus SV40



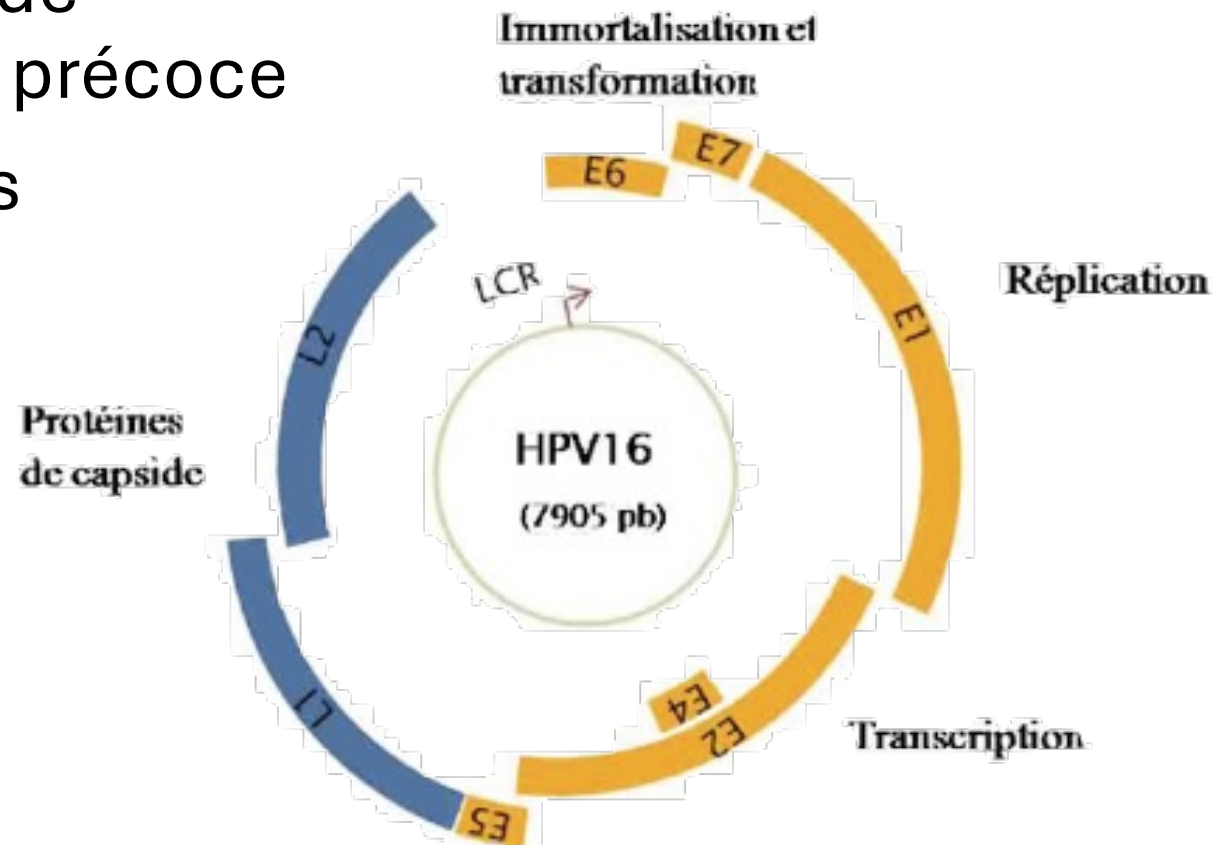
Annu. Rev. Microbiol. 2012. 66:213–36

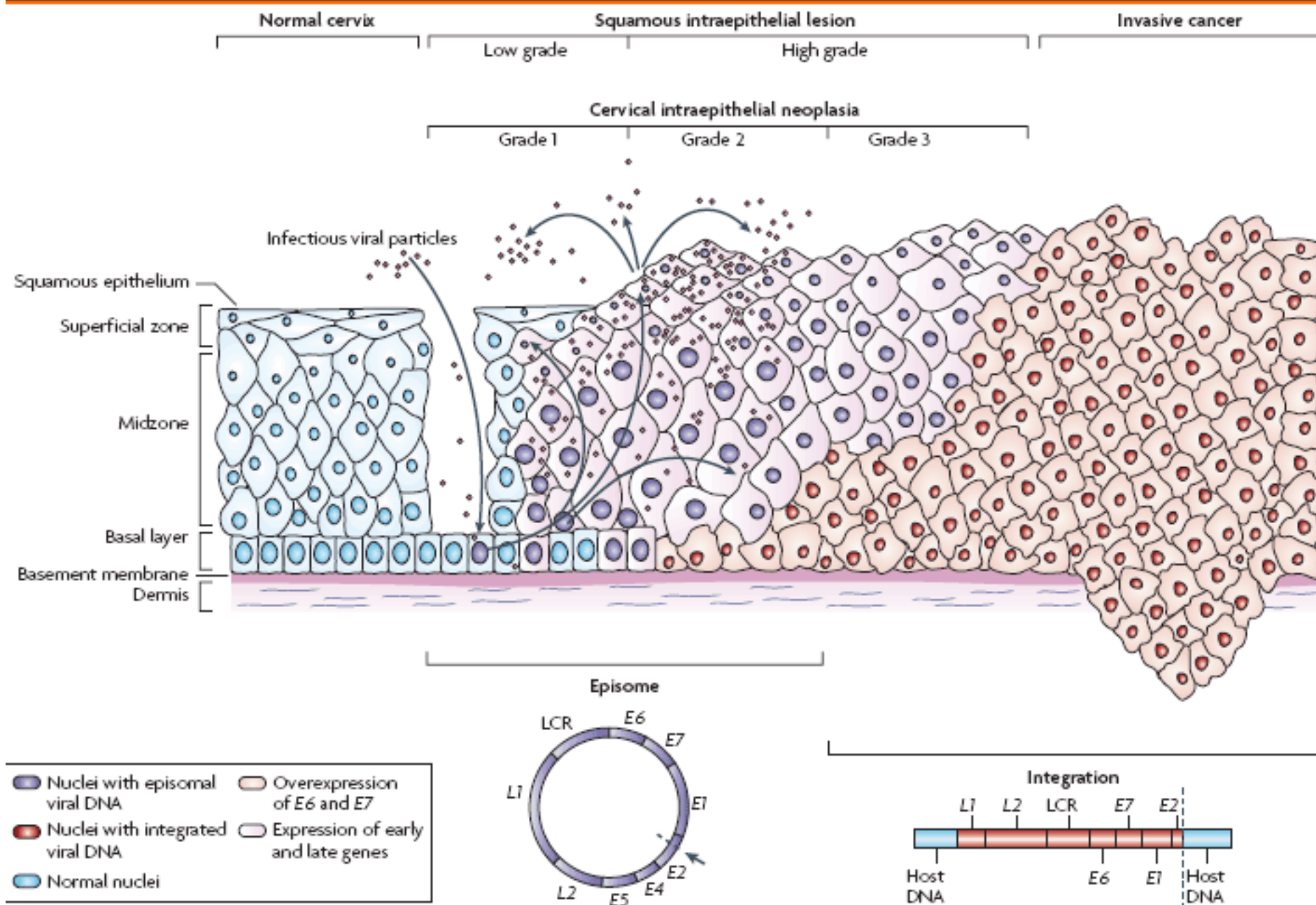




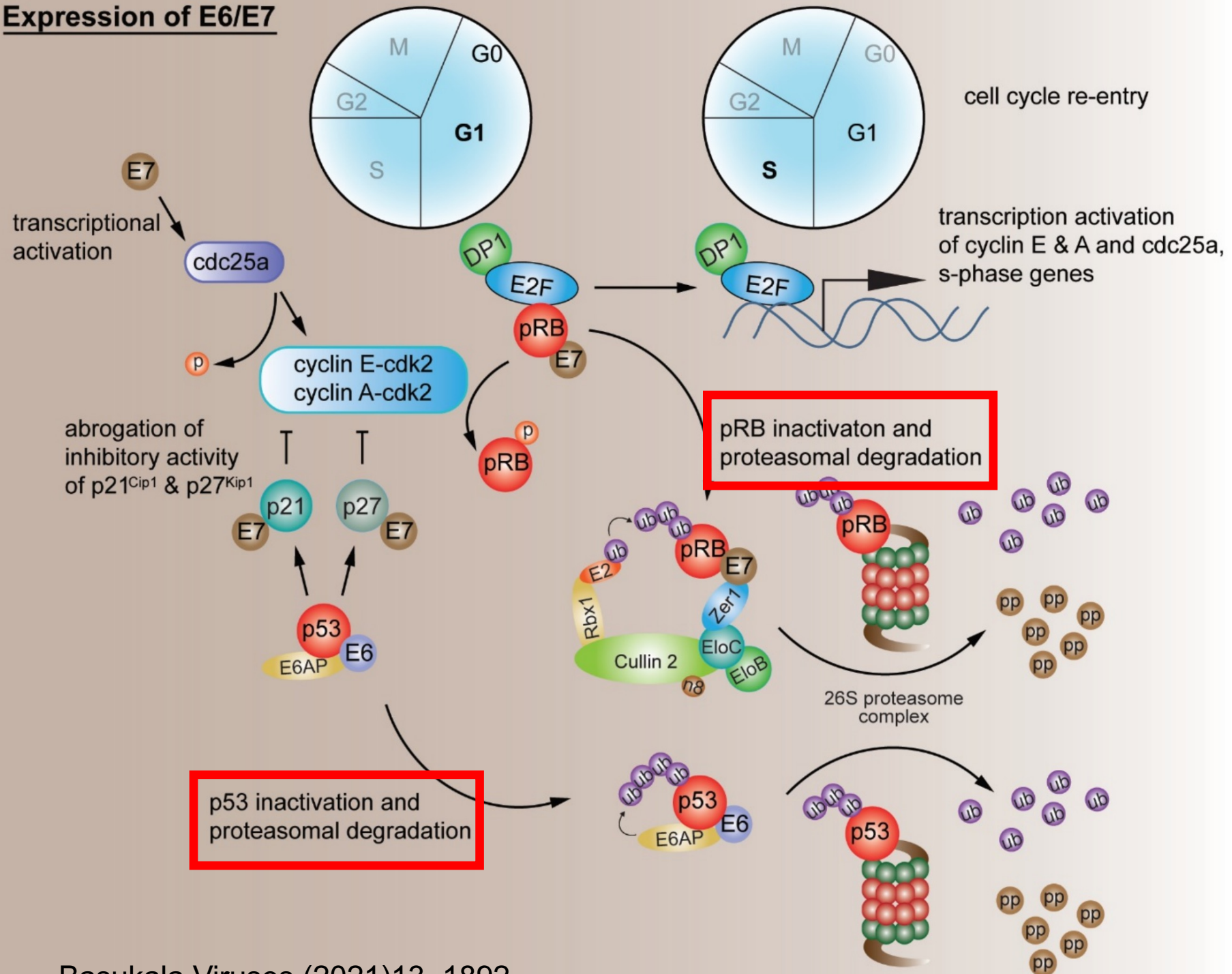
Structure HPV

- 6 phases ouvertes de lecture d'expression précoce
- E6 et E7 oncogènes





Expression of E6/E7

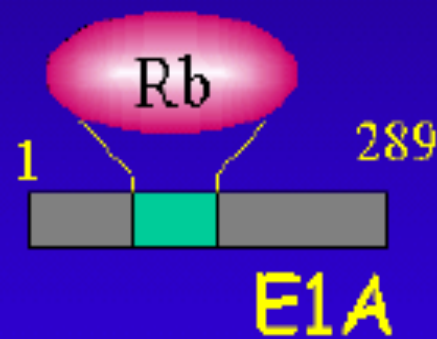


DNA tumor viruses bind multiple cellular proteins

SV40



Adenovirus



HPV

