Génétique cours n° 8h30-10h30

Ronéotypeur : Elise Cordonnier Ronéolecteur : Gaëlle Helias

Oncogénétique

Prédisposition au cancer du colon et au mélanome

Formes monogéniques, implications médicales

Oncogénétique :étude des cancers « héréditaire »

Sommaire:

- I. Oncogénétique : généralités et rappels de génétique moléculaire.
- A. <u>Les anomalies génétiques dans les cellules tumorales.</u>
- 1. Les deux types d'altération génétique.
- 2. Prédisposition génétique au cancer.
- 3. Evolution clonale.
- B. <u>Observations épidémiologiques.</u>
- C. <u>Exemple du rétinoblastome</u>.
- 1. Présentation de la maladie.
- 2. La protéine Rb.
- 3. Transmission héréditaire du rétinoblastome.
- D. <u>Les différentes étapes de la consultation génétique.</u>
- 1. Conseil génétique.
- 2. 1^{ère} consultation d'oncogénétique.
- 3. 2^{ème} consultation d'oncogénétique
- II. Prédisposition au cancer colorectal.
- A. <u>La polypose colique familiale.</u>
- B. <u>Le syndrome de Lynch ou HNPCC (Hereditary non polyposis colorectal cancer).</u>
- 1. Systèmes de réparation de l'ADN.
- 2. HNPCC : histoire de la maladie.
- 3. Transmission génétique de l'HNPCC.
- 4. Indications à une consultation oncogénétique.
- 5. Démarche diagnostique.
- 6. Conseil génétique et implications familiales.

III. Prédisposition héréditaire au mélanome

- A. Généralités
- B. <u>Mélanome familial</u>
- 1. Le gène CDKN2A
- 2. Le gène CDK4
- 3. Le gène BAP1
- C. Forme syndromique de prédisposition de cancer

Oncogénétique : généralités et rappels de génétique moléculaire.

L'oncogénétique est une discipline plutôt récente qui a fait beaucoup de progrès depuis quelques années, en effet on découvre de plus en plus de facteurs génétiques impliqués dans certaines maladies et notamment les cancers.

<u>Définition</u>: L'oncogénétique est l'étude des cancers héréditaires.

En oncogénétique deux questions sont très importantes :

- Quels sont les patients et les familles concernées ?
- Quelles sont les modalités de prise en charge ?

A. <u>Les anomalies génétiques dans les cellules tumorales.</u>

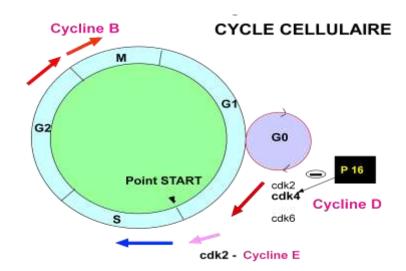
Les cellules tumorales ne comportent pas une seule mais une **accumulation progressive de mutations**. Certaines mutations sont **sélectionnées (évolution clonale)** cela va entrainer deux types d'altération :

- -l'activation d'oncogène
- -inactivation d'un gène suppresseur de tumeur, qui s'oppose à la prolifération anormale des cellules

1. les deux types d'altération génétique

Activation d'oncogène.	Inactivation de gène suppresseur	
	de tumeur.	
1 Seul événement.	2 Événements.	
Soit:	Pour pouvoir inactiver un gène il	
 Une mutation de gain de fonction : c'est une mutation directement sur l'oncogène. Ce dernier va donc activer en permanence l'enzyme ou la protéine, alors que normalement il est activé en réponse à la fixation du ligand sur un récepteur. Par exemple : la mutation activatrice du gène c-kit dans les tumeurs gastro-intestinales différenciées (GST). 	faut une inactivation systématique des deux allèles. Les deux gènes les plus importants sont : V P53	
• Par une translocation. Par exemple : le gène bcr-abl dans la leucémie.	✓ CKN2A (P16)	
 Par amplification : exemple CDK1. Des régions du génome sont répétées de très nombreuses fois ce qui permet d'activer de manière importante des mécanismes de prolifération. 	Très important de les retenir.	

Petit rappel su r le Cycle cellulaire :



2. Prédisposition génétique au cancer :

La Prédisposition génétique est l'**agrégation de cancer dans une même famille**. En d'autres termes, c'est la prédisposition la plus forte et donc celle qui va avoir des conséquences au niveau de la prise en charge du malade et de sa famille. Cette prédisposition concerne tous les cancers mais seulement 5 à 10% des cancers vont être soumis à une forte prédisposition génétique, donc ce sont des formes **rares**.

Comment va t-on reconnaitre ces prédispositions au cancer (dans les familles ou un patient) ?

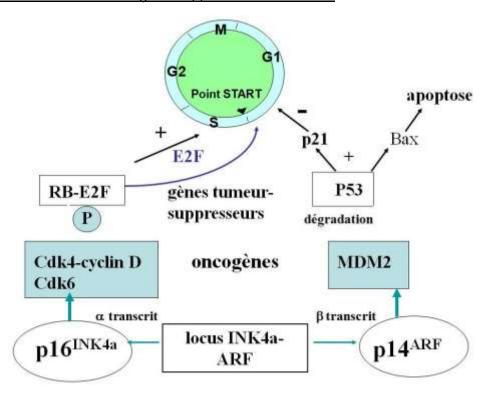
- On peut les reconnaitre car elles surviennent plus tôt, âge précoce dans les cas sporadiques
- -il y a plusieurs cancers chez un même individu ou dans la même famille

Selon la **forte ou faible** prédisposition du gène on défini la **pénétrance** <u>qui est la probabilité de développer</u> le cancer quand on est porteur de la mutation.

→ Les différents types de transmission dans les familles :

- -autosomique dominante : transmission de génération en génération (transmission verticale) avec une chance sur 2 de transmettre l'anomalie. Elle ne dépend pas du sexe. Très souvent ce sont des gènes suppresseurs de tumeur les plus souvent mutés (++++) ,et plus rarement les oncogènes (+)
- -récessive : nécessité d'avoir hérité de la mutation de chacun de ses parents pour développer la maladie. (consanguinité++). Par exemple dans le Xéroderma pigmentosum (mutation de l'enzyme de réparation de l'ADN)
- **-polygénique :** il faut avoir la mutation sur plusieurs gènes à la fois (beaucoup plus rare, et se rapproche plus de l'approche multifactorielle)

Fonctionnement d'un gène suppresseur de tumeur :

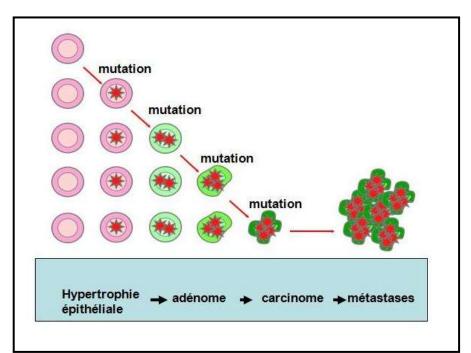


Ce schéma nous montre les mises en place des régulations par le gène CDKN2A qui code pour **deux transcrits différents** (alpha et béta) qui codent pour deux protéines : **p16** INK4a et **p14** ARF.

Cette capacité duale, va permettre à ce gène de réguler négativement le cycle cellulaire par 2 voies complémentaires :

- -la **voie Cdk4-cycline D Cdk6** (++) permet de stabiliser la protéine Rb par la stabilisation de cette dernière en la phosphorylant et donc cela l'active et ensuite active E2F qui va pouvoir stopper le cycle cellulaire(mécanisme important qui est inactivé dans beaucoup de cancer)
- La voie p14/p53. En situation normale la protéine MDM2 va dégrader P53 en l'emmenant dans le cytoplasme puis dans le protéasome. Mais la protéine p14 a la faculté de se fixer sur MDM2 et de l'emmener dans le nucléole inhibant ainsi son activité. P14 stabilise donc P53 qui a un rôle très important dans l'arrêt du cycle cellulaire.

Ces deux mécanismes intelligents induit par le même gène vont permettre de freiner le cycle cellulaire.



3. Evolution clonale

Cette diapositive illustre qu'un cancer est issu d'une sélection et d'une accumulation de **mutations qui parfois deviennent clonales**. Au départ une cellule avec juste une seule mutation n'a pas de phénotype cancéreux.

On voit bien les différents stades que l'on retrouve dans le développement d'un cancer.

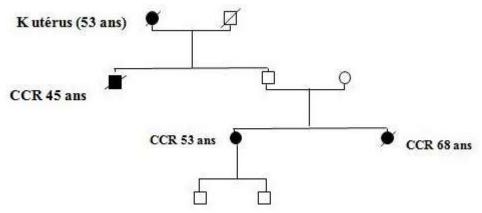
B. Observations epidémiologiques

Avec des **études de population** on a pu mettre en évidence les prédispositions génétiques aux cancers . On a pu constater, dans certaines familles, les **risques relatifs pour les apparentés de développer un cancer sont augmentés (multipliés) par 1.5-3,** du à deux choses :

- -facteurs génétiques partagés, ce ne sont pas nécessairement des facteurs génétiques très forts.
- -facteurs environnementaux partagés (tabac, pollution,...)

Dans ces circonstances là où on est en train de changer d'approche avec l'avènement du séquençage allélique qui va nous donner la possibilité de séquencer le génome et d'identifier peut être de plus en plus de facteurs génétiques, même minimes, prédisposant. On peut se poser la question sur la **légitimité** et **l'intérêt de la prévention et du dépistage** dans les familles faiblement prédisposant donc avec des **implications individuelles modestes**. Bien entendu la situation est différente dans le cas d'un gène majeur qui prédispose fortement au cancer.

Exemple d'un Arbre généalogique évocateur d'une transmission mendélienne cas « rare » : 2-5% des cancers :



Le cas index étant le femme de 53 ans ayant eu un CCR (cancer colorectal)

Ici on peut voir que les individus ayant développé des cancers colorectal (CCR) étaient relativement jeunes car normalement des CCR en surviennent pas avant 65ans. Les individus ayant développé des cancers sont liés au premier degré ou au deuxième .Il n'y a pas que des cancers CCR mais aussi de l'utérus donc Il n'y a pas qu'un seul cancer mais un **spectre**. On le verra en détails mais le cancer de l'utérus fais partis du pectre de cancer HNPCC.

C. L'exemple du rétinoblastome

1. Présentation de la maladie

Le rétinoblastome est une tumeur de l'œil extrêmement grave chez l'enfant dont la pénétrance est quasicomplète. Le caractère familial est lié à la mutation du gène **Rb** et l'on retrouve souvent dans les familles des enfants qui ont des cancers aux deux yeux (bilatéralité de la maladie).

• **Hypothèse de Knudson en 1971** : il faut deux anomalies génétiques successives pour initier la formation d'un rétinoblastome.

Dans le <u>cas des rétinoblastomes héréditaires</u>, une des anomalies est héritée d'un des deux parents (c'est la mutation germinale ou constitutionnelle). La deuxième mutation va survenir rapidement sur l'autre allèle, cette mutation (appelée mutation somatique) va inactiver complètement le gène.

- Identification du gène Rb: ce gène a été identifié par des études de liaisons génétiques sur le chromosome 13 dans la région 13q14. Avant, pour localiser un gène de prédisposition à une maladie il fallait pouvoir collecter l'ADN des sujets atteints mais également des sujets non malades. Ensuite on faisait une étude de liaison génétique: on prenait des marqueurs génétiques répartis sur l'ensemble du génome et on étudiait la co-ségrégation de ces marqueurs avec la maladie et ceci, grâce à des études statistiques, permettait de situer dans le génome le gène de susceptibilité. Mais maintenant grâce aux puces à ADN on localise un gène beaucoup plus vite.
- Mais on s'est surtout rendu compte qu'il y avait une perte d'allèles dans les tumeurs au niveau des mêmes régions à chaque fois.

Le rétinoblastome c'est une tumeur très rare et très grave qui survient chez l'enfant et est parfois bilatérale on distingue a la fois des cas sporadiques et des cas familiaux et très souvent dans les cas familiaux ce sont les deux yeux qui sont touchés.

C'est l'hypothèse de Knudson en 1971 qui a été mise en avant et pu être vérifiée :

Deux anomalies génétiques sont nécessaires pour initier le processus cancéreux donc la formation d'un rétinoblastome héréditaire.

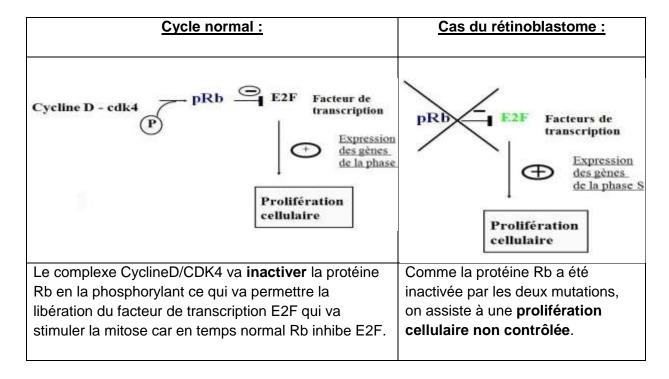
Dans le cas des rétinoblastomes Knudson a mis en évidence que les sujets naissaient avec une 1ere mutation et au cours de la vie survenait un 2^e événement qui conduisait à une inactivation totale du gène et donc du à sa prédisposition au cancer entrainait le développement du rétinoblastome.

Le 1^{er} événement est ce qu'on appelle une **mutation constitutionnelle ou germinale**, **héritée par les parents**, le second événement est une **mutation somatique** qui est acquise au cours de la vie

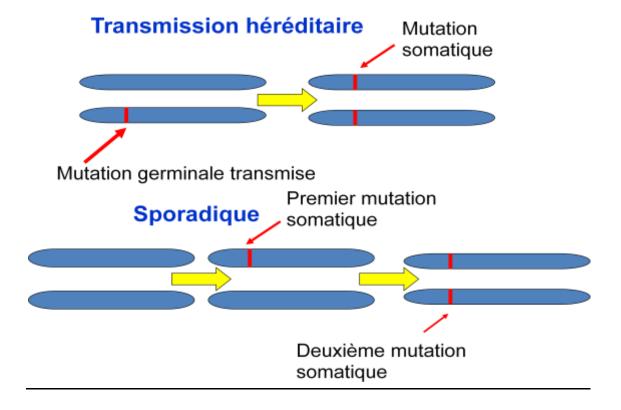
schéma plus loin pour l'expliquer

l'Identification du gène Rb s'est faite en 1986 on s'est rendu compte que dans quelques familles on faisait une analyse de <u>liaison génétique</u> cad qu'on regardait sur l'ensemble des chromosomes en choisissant des marqueurs qui étaient espacés à la même distance et on étudiait la co-ségrégation de ces marqueurs avec la maladie, ceci était permis grâce à un calcul, le lod score, de positionner et de localiser le gène. Par ce biais on a pu mettre en évidence la délétion d'une **région chromosomique 13q14** et parallèlement on a mis en évidence dans les tumeurs qu'il y avait une **perte du 2**^e allèle.

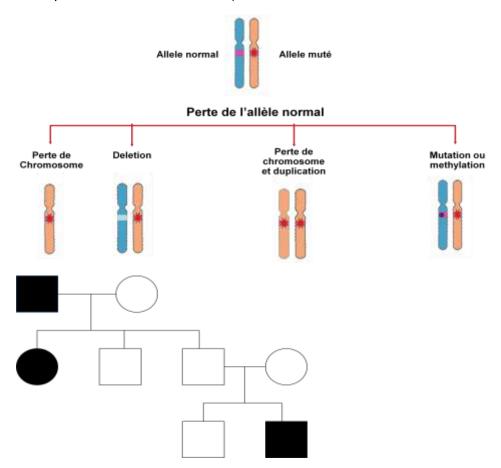
2. La protéine Rb.



3. <u>Différents mécanismes de la mutation de la protéine Rb :</u>



- -Inactivation constitutionnelle du gène
- différents types de mutations/inactivation secondaire : perte de chromosome, une délétion, une perte de chromosome avec duplication, mutation ou méthylation (mécanisme épigenetique qui joue un rôle m ajeur sur le processus de cancérisation)



De temps en temps notamment chez le père de ce garçon le phénotype, le phénotype ne s'exprime pas, on parle de: pénétrance incomplète (de 40 a 60% selon les cancer)

D. <u>Les différentes étapes de la consultation génétique</u>

En pratique : consultation d'oncogénétique quels sont les patients et familles concernés ?

Ce qui va nous concerner sont les types de prédisposition qu'on va être amener à voir en consultation :les predispostions monogéniques . Car elles confèrent un risque élevé pour les individus prédisposés, il y a de plus en plus de possibilités de prévention (ex coloscopie pour surveiller le cancer du colon) et il y a les formes incurables que l'on peut détecter au DPN (comme le xeroderma pigmentosum)

1. <u>Le conseil génétique</u>

- Le conseil génétique commence par une analyse personnalisée et détaillée de l'histoire familiale afin d'identifier et répertorier l'ensemble des causes de décès et de maladies des membres de la famille.
- Préciser TOUS les cas de cancer sur l'arbre généalogique ainsi que **l'âge au moment du** diagnostic et des compléments d'information, comme les comptes rendu anatomopathologiques +++.

Tout ceci va nous conduire à évaluer la probabilité et l'existence d'une forme monogénique.

- Le conseil génétique sert à **confirmer le diagnostique** de certaine forme de cancer, de maladie extrêmement rare avec tout un cortège d'autres symptômes que vous allez pourvoir identifier grâce à ces symptômes vous allez penser au diagnostic.
- Le conseil génétique va permettre d'identifier une forme de prédisposition au cancer, on va donc pouvoir proposer au malade, appelé cas index, et une fois qu'on à identifié la mutation, proposer de chercher cette mutation chez tous ses apparentés qui le souhaitent afin d'identifier les gens au sein de la famille qui sont prédisposé c'est le diagnostic pré symptomatique des apparentés. Enfin on pourra proposer un DPN (si morbidité importante)
- → Le conseil génétique va permettre de prendre des mesures de prévention

2. La première consultation

Elle se fait de préférence chez un **médecin généticien** elle est **proposée** et **non imposée**. C'est une consultation **longue** en **collaboration avec le staff de cancérologie**.

Le médecin a pour devoir **d'informer le patient**, sur la maladie, sur le gène, sur les **possibilités de diagnostic et de prévention** et les <u>conséquences pour sa famille (++)</u>

Faire un arbre généalogique avec recueil de tous les cas de cancers

Après une réflexion plus ou moins longue, cela débouche sur un **prélèvement génétique** avec la signature d'un **consentement éclairé** (indispensable). Dans le même temps on remet une **attestation** au patient comme quoi on lui a bien expliqué la nature de la prédisposition qu'il subirait et les conséquences en matière de prévention pour sa famille dans le cas où l'on trouverai une mutation. Dans le cas de prédisposition lourde une **aide psychologique** est fondamentale à proposer au patient.

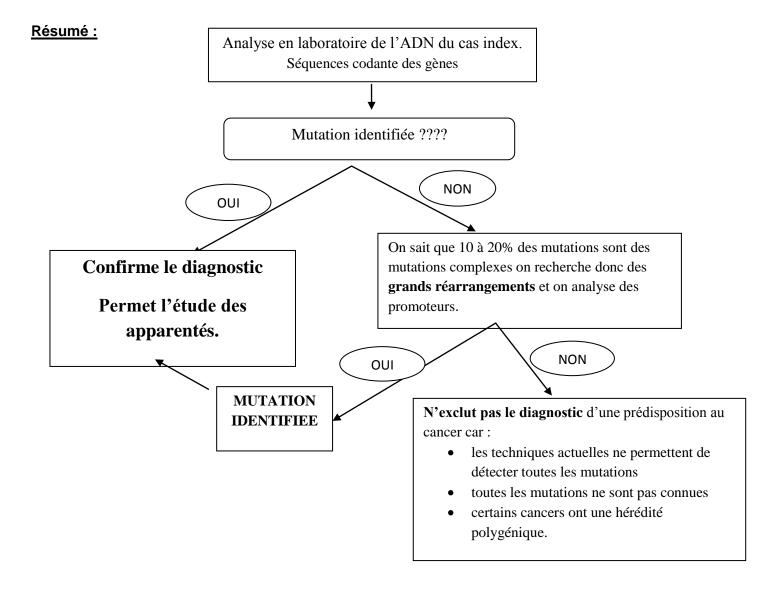
Le Consentement éclairé, répond à la loi du 6 aout 2044 :

Démarche de génétique

- Recueil d'un <u>consentement</u> de cette personne par écrit
- Médecin œuvrant au sein d'une équipe pluridisciplinaire
- Agrément de laboratoires et des praticiens pour
- -Devoir de confidentialité,
- -devoir d'information
- -l'autonomie du sujet
- -information sur la maladie
- -Nature du test génétique
- -implications des résultats positifs ou négatifs

Comment se passe la mise en évidence d'une altération génétique ?

On fait une prise de sang ou de salive pour récupérer l'ADN, on envoie le prélèvement en laboratoire. On extrait l'ADN des globules blancs, grâce à des amorces spécifiques on va aller regarder le gène qui nous intéresse et on va pouvoir séquencer (par des logiciels), on peut alors remarquer une mutation non sens, faux sens etc...



3. 2^e consultation

C'est là où on rend le test au patient et où on propose le **diagnostic pré symptomatique** aux apparenté (=analyse moléculaire chez un sujet asymptomatique) c'est le patient lui-même qui v a devoir informer ses proches .

<u>Le diagnostic pré symptomatique :</u> (arrêté du 2 mai 2011) **obligatoirement par un généticien** (contrairement a la première consultation qui peut être faite par un généraliste ou autre)

- Dans le cadre d'une équipe pluridisciplinaire
- compétente en génétique
- Consultation individuelle
- Ne se fait que si on a préalablement mis en évidence une mutation familiale connue
- On suit le protocole, il faut une ou deux consultations pour informer avant le prélèvement sanguin et une consultation pour rendre le résultat

Donc il y a exploration moléculaire par séquençage de l'exon porteur de la mutation chez le cas index . On se retrouve avec deux cas de figure :

<u>Chez l'apparenté</u> :		
Absence de mutation.	Présence de mutation :	
 Pas de risque familial. Pas de transmission du risque à la descendance. Mais le risque général persiste! 	 Faire un second prélèvement de confirmation. Risque lié à la prédisposition familiale. On peut organiser une prise en charge = prévention. Risque de transmission à la descendance. 	

Rôles des médecins :

Médecin traitant:	Onco-généticien :
✓ Dépiste les formes évocatrices.	✓ C'est lui qui va donner la précision du risque.
 ✓ Participe au diagnostic des formes génétiques. 	✓ Il va effectuer le test génétique.
	✓ En cas de mutation il va fédérer le
✓ Prend en charges le suivi et le	suivi avec l'équipe pluridisciplinaire et
traitement du patient.	c'est lui qui va organiser le test pour les apparentés.

II. Prédisposition héréditaire au cancer colo rectal (CCR) :

C'est le cancer le plus fréquent dans la population f=1/20. Il représente 95% des formes sporadiques et donc 5 à 10% des CCR ont une prédisposition familiale.

Deux types de prédisposition :

- -la forme la plus fréquente étant **HNPCC**, 1% des CCR, (heritory nonpolyposis colorectal cancer)
- -la polypose adénomateuse familiale

A. La polypose colique familiale

Ce cancer se transmet de manière autosomique dominante . L'âge moyen est de 39ans, donc c'est très jeune et très souvent on le dépiste par une rectorrhagie qui conduit à une radioscopie où l'on observe la muqueuse colique qui va être tapissée par de multiples polypes ; ce cancer est du à une mutation du gène APC sur le chromosome 5.

Les cancers associés sont les cancers de l'intestin du grêle, de l'estomac, thyroïde.

Le traitement est la colectomie totale vers 15-20ans càd chirurgie radicale où l'on retire tout le colon .

B. Syndrome de lynch ou HNPCC (+++)

Attention : un patient de HNPCC peut présenter quelques polypes dans le colon (4-5), dans le cas d'une polypose c'est plusieurs centaines voir plusieurs milliers de polypes.

1. Systèmes de réparation de l'ADN :

Pour mieux comprendre il faut revenir aux systèmes de réparation de l'ADN. Notre ADN mute constamment, et pour cela nous avons des systèmes capables de réparer ces mutations.

Ces systèmes de réparation sont constitués de plusieurs protéine, chacune de ces protéines va avoir un rôle spécifique le premier groupe de protéines va identifier la mutation, la 2e groupe va dérouler et exciser l'ADN puis le 3^e groupe reconstitue l'ADN non muté.

Et un de ces systèmes est défaillant dans le cancer du colon : c'est le **SMR** (système de réparation des mésappariement.

Le SMR est un de réparation très **spécialisé**, qui prend en charge les erreurs dans les séquences répétées. Il est couplé à **l'ADN polymérase** qui répare les incorporations de base fautives dans les **séquences répétées**. Car ces séquences répétées se prêtent beaucoup plus à des mutations.

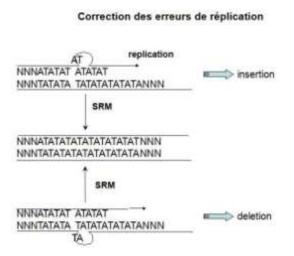
Ce système est un complexe multiprotéique composé des protéines hMSH 2, hMLH1, PMS2, PMSH6.

Quand ce système est déficient, altéré cela augmente le taux de mutation dans la cellule tumorale, cela augmente la vitesse d'accumulation taux de mutations dans le oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs.

Ce système fonctionne si on a un seul des deux gène muté et pas l'autre, donc il faut un 2^e événement pour que le système soit déficient. (d'Hypothèse de knudson)

Patient hétérozygote pour la mutation.	Patient homozygote pour la mutation.
(SRM +/-)	<u>(SRM -/-)</u>
Pas d'altération de la réparation, le patient ne développe pas le cancer. (Comme pour le rétinoblastome les deux allèles doivent être inactivés).	Instabilité des séquences microsatellites qui traduit que le SRM ne fonctionne plus.

En situation normale le SRM corrige les erreurs de réplication en restituant à l'identique la séquence codante.



En situation normale le SRM corrige les erreurs de réplication en restituant à l'identique la séquence codante.

Dans le cas d'une instabilité microsatellite, les insertions et les délétions du dessus ne vont plus être réparées. On voit ça très bien dans les cellules tumorales où aucune de ces erreurs ne vont être réparées : on utilise donc un marqueur pour un allèle et on compare sa présence dans le sang et dans la tumeur. On voit bien que dans la tumeur cette séquence a été amplifiée.

MSI=instabilité microsatellite.

TATATATATATATATA ADN Analyse des Produits de PCR Phénotype tumoral MSI Sang tumeur

2. HNPCC : histoire de la maladie

Cette maladie avait une suspicion de caractère héréditaire depuis le début du siècle, mais la difficulté venait du fait que dans l'HNPCC plusieurs gènes sont impliqués et que la pénétrance est incomplète. Il y avait également une **difficulté de clonage des gènes**.

Etapes du clonage :

- ✓ On a d'abord fait une **liaison génétique**, grace a de grandes familles porteuses de CCRet on a trouvé 2 loci intéressants sur le chromosome 2 en 2p16 et sur le chromosome 3 en 3p21.
- On a remarqué un peu par hasard qu'il y avait une instabilité microsatellite dans les tumeurs.
- ✓ On a par la suite cloné chez E. Coli les homologues du SRM : MutH, MutL et MutS.
- ✓ Puis clonage chez l'homme des homologues hMSH2 et hMSH1.

Puis on a confirmé le rôle du SRM dans l'HNPCC, on a vu que c'était une **mutation germinale**, puis on a essayé de **corriger le phénotype mutateur dans les tumeurs hMLH1 -/- par surexpression de hMLH1.**

3. Transmission génétique de l'HNPCC.

Transmission autosomique dominante, la pénétrance est incomplète (**50-80%** de risque de développer la maladie).

Fréquence chez les hétérozygotes de 1/500. L'Âge moyen est de 44 ans .

Dans le syndrome de Lynch il ya un <u>risque très élevé de cancers associés</u> (d'où l'importance de l'histoire familiale). Il y a un <u>risque élevé</u> d'avoir un cancer de l'endomètre, du rein et de l'uretère et un risque plus faible de cancers associés de l'intestin grêle, estomac et ovaire.

Ces cancers associés sont aussi appelés spectre tumoral donc dans ce tableau on reprend ce qui a été dit sur les risque plus ou moins élevés de cancer associés.

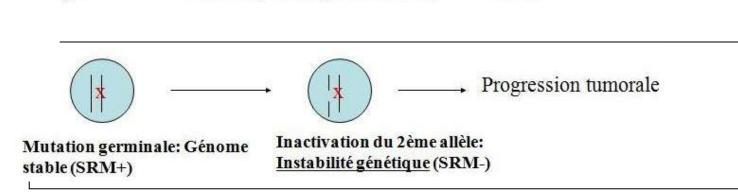
SPECTRE TUMORAL DE L'HNPCC		
Spectre tumoral étroit	Spectre tumoral élargi	
Cancer colorectal. Cancer de l'endomètre Cancer de l'intestin grêle Cancer du rein Cancer de l'uretère Cancer urothélial – voies urinaires supérieures	Adénocarcinome gastrique (estomac) Cholangio-carcinome Cancer de l'ovaire Glioblastome (syndrome de Turcot) Carcinome sébacé (syndrome de Torre-Muir)	

→ Les tumeurs de l'HNPCC sont caractérisées pas un phénotype RER aussi appelé instabilité microsatellite.

<u>Définition générale de l'HNPCC</u>: mutations germinales de gènes impliqués dans la correction des mésappariements (mismatch) de l'ADN.

Rappel sur les 5 gènes impliqués dans l'HNPCC :

2p15	hMSH2 (homologue de MutS)	45%	Retenir surtout ces
3p21	hMLH1 (homologue de MutL) 49%		deux là car ce sont
7p22	hPMS2 (homologue de MutL)	6%	les plus fréquents.
2q31	hPMS1 (homologue de MutL)	rares	
2p16	hMSH6 (homologue de MutS)	rares	



L'individu naît avec une mutation germinale sur un de ces chromosomes mais la SRM marche toujours. Puis au cours de sa vie se produit l'inactivation du deuxième allèle par une délétion sur l'autre chromosome (entraînant la mutation somatique), cela entraine donc une instabilité généique (SRM-) et aboutit à une progression tumorale.

4. <u>Indications à une consultation oncogénétique.</u>

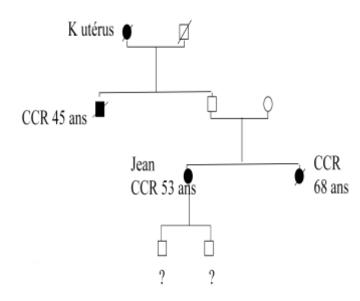
Le cancer colorectal est le plus fréquent dans la population donc comment repérer les vraies familles qui ont besoin d'un suivi génétique ? Une série de critères a donc été mise en place.

- Risque élevé (critères Amsterdam de type II) :critères avec une sensibilité de 60 à 70%
- ✓ Au moins **2 cas de cancer** familial évocateur (CCR, endomètre, estomac, intestin grêle, voies biliaire, rein) dont au **moins 2 au premier degré** (frère, sœur, père ou mère).
- ✓ Cancer colorectal sur au moins deux générations.
- ✓ **Age au diagnostic < 50 ans** chez un des malades (retenir uniquement les critères qui confèrent un risque majeur)

→ Risque intermédiaire :

- ✓ Cancer colorectal ou cancer du spectre à moins de 40 ans.
- ✓ Cancer colorectal multiple OU CCR + cancer de l'endomètre + autre cancer du spectre.
- ✓ Tumeur avec instabilité microsatellite à moins de 60 ans.
- ✓ Cancer colique gauche ou rectal avec des instabilités microsatellites ++.

Nombres prévisionnel de cs d'oncogénétique=5 à 10% des cas incidents, soit 2000/an



Si on reprend l'arbre de tout à l'heure on voit plusieurs

éléments en faveur de l'HNPCC :

- Il y a trois cas de cancer colorectal.
- Transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète (au niveau du père).
- Un cancer du spectre (cancer colorectal) avant 50 ans donc âge jeune
- Cancer apparenté à l'HNPCC (cancer de l'utérus).

5. <u>Démarche diagnostique.</u>

- a. On analyse d'abord l'ADN tumoral. (avant on analysait aussi l'ADN leucocytaire mais ce n'est plus vraiment utile). Et on cherchait la présence d'un **phénotype d'instabilité microsatellite.**
- b. En cas d'instabilité microsatellite, on fait une prise de sang et on va cherchklker une mutation constitutionnelle des gènes les plus fréquents : **hMSH2 et hMLH1**.

c. Si les mutations sont détectées, on fait toujours un deuxième prélèvement pour confirmer et après on cherche les mutations **chez les apparentés majeurs** (+ de 18ans) pour un diagnostic présymptomatique.

Le prof est passé très vite sue cette diapo donc je la met mais je ne pense pas qu'elle ait un grand interet :



	Mutation génétique	Marqueurs	Protéine
ADN leucocytaire	hétérozygote	2 allèles	Présente
ADN tumoral	homozygote	n allèles	Absente
	% activité iduelle	The second secon	activité duelle
Mutation germinale	2ème	événement so	matique

Recherche du phénotype d'instabilité microsatellite (ou MSI) :

C'est une procédure qui est devenue standardisée pas le NIH.

- Cela se fait directement grâce a l'étude, **génotypage**, de 5 marqueurs monomorphe : BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27. Technique très sensible quand on a plus de 10% de cellules tumorales ; et hautement spécifique.
- -On peut également en complément des marqueurs, rechercher l'instabilité microsatellite par <u>immunomarquage (2^e méthode) :</u>

On prend des anticorps anti-hMLH1, anti-hMSH2 et anti-hMSH6 et on regarde si au niveau de la tumeur, en comparant avec la muqueuse normale autour du cancer, il y a une perte d'expression de ces protéines. S'il y a une perte d'expression de la protéine , cad qu'on a une inactivation totale des deux gènes.

Cette technique a un sensibilité moindre que celle du génotypage (92%), il y a d'importantes variations d'interprétation inter observateurs.

Grâce à cette technique on va avoir une **indication sur la mutation causale**, par exemple sur on a une perte d'expression d'hMSH2 on va d'abord chercher la mutation sur son gène.

Souvent on fait les deux techniques en même temps, à l'anatomo-pathologie on fait l'immunomarquage et en génétique on fait la technique des marqueurs ; puis on confronte les résultats.

En laboratoire on recherche d'abord des <u>mutations ponctuelles sur hMLH1 et hMSH2</u> et si on ne trouve pas de mutation on étudie <u>hMSH6 pas séquençage</u>. Si on ne trouve toujours pas mutations on cherche des <u>grands réarrangements</u>.

hMLH1 et hMSH2 \rightarrow hMSH6 \rightarrow réarrangements de grande taille

6. Conseil génétique et implications familiales

Mutation chez le cas index : donc on recherche la mutation chez les apparentés :



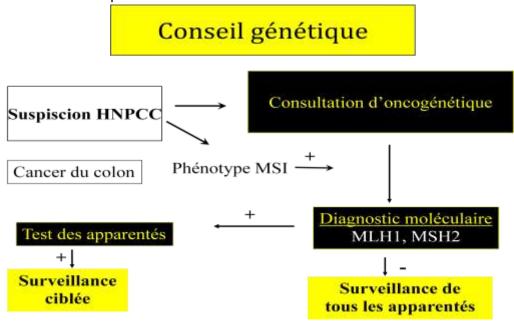
MUTATION	PAS DE MUTATION
✓ Mise en place d'un dispositif : Coloscopie dès 25 ans puis tous les 2 ans à compléter par un colorant type rouge carmin (colorant qui permet de piéger les petits polypes débutant augmenter la sensibilité du test). Dans certains cas on dit qu'on commence les coloscopies chez les apparentés 10 ans avant l'âge du premier cancer dans la famille (si c'est 30 ans, on commence à 20 ans).	On rassure l'individu.
La chirurgie prophylactique (on retire le colon en prévention) n'est <u>pas</u> indiquée.	
(très important à savoir !!!)	

- <u>Si on ne trouve pas de mutation chez le cas index</u> on ne peut pas exclure d'HNPCC !!! Car les techniques actuelles ne permettent pas de détecter toutes les mutations. On organise donc une surveillance coloscopique de la famille.
- → Il ne faut pas oublier une **prise en charge gynécologique** pour les femmes de la famille car un des cancers lié à l'HNPCC est le cancer de l'endomètre.

Il faut un **examen gynécologique annuel dès l'âge de 30 ans** avec une mesure de l'épaisseur de l'endomètre par échographie ainsi qu'une hystéroscopie (exploration de l'utérus à l'aide d'un endoscope).

Pour les femmes ménopausées et qui ont déjà eu un cancer colorectal on peut leur proposer une **hystérectomie prophylactique.** (On enlève l'utérus à titre préventif).

Petit schéma du prof :



III. Prédisposition héréditaire au mélanome :

A. Généralités :

C'est une tumeur rare le mélanome c'est 10 000 nouveaux cas par an en France. C'est beaucoup plus dans le monde, le pays où il y a le plus de mélanome c'est en Australie , c'est un problème de santé publique majeur la bas.

(je vous mets la diapo même si elle est en anglais ,avec les commentaires en dessous , parcequ'on est trop fort en anglais médical grâce avec la fac aujourdhui !!!! :D)

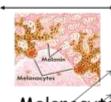
Melanoma risk factors

Genes (OMIM Rare mutations conferring high risk -2%

- · CDK4
- BAP1

Frequent variants conferring low risk

> MC1R . OCA2. ASIP, TYR, MATP, MITF, ATM...



Other risk factors Phenotypic/host factors

 Nevus: number, dysplasia

Melanocyte Pigmentation phenotype fair skin, freckles, clear eyes, blond or red hair

Skin reaction to

sun:Phototype I II inability to tan



[Nevi]

Melanoma

On a des gènes de prédisposition très fort : CDK4 , CDKN2A et BAP1 . donc on fait les recherches en particulier sur ces 3 gènes mais il y a plein de locus / variants qui rentre en compte (génétique multifactorielle) qui chacun à eux seul augmentent faiblement le risque.

Pour le mélanome on a déjà 18 locus et qui peuvent faire l'objet d'un test au fur et a mesure des découvertes.

On sait depuis longtemps que lorsque les gens avaient beaucoup de grains de beauté, des yeux bleus, les cheveux roux, blond, ceux qui ne bronzaient pas bien... ils avaient plus de risque (par exemple entre ceux qui ont les yeux bleus par rapport aux yeux marron était multiplié par 1.5).

Les mélanocytes sont censés produire de la mélanine et nous protéger contre la lumière du soleil. (Ce pigment va se tapisser autour des noyaux et lorsque la cellule absorbe la lumière, et bien l'ADN est protégé des UV par ce pigment)

On voit bien qu'on a une interconnexion entre ces gènes de pigmentation et le phénotype.

B. Le mélanome familial

Dès le début du 20^e siècle, les gens avec beaucoup de grains de beauté avaient un risque de mélanome familial.

C'est comme pour le cancer du colon

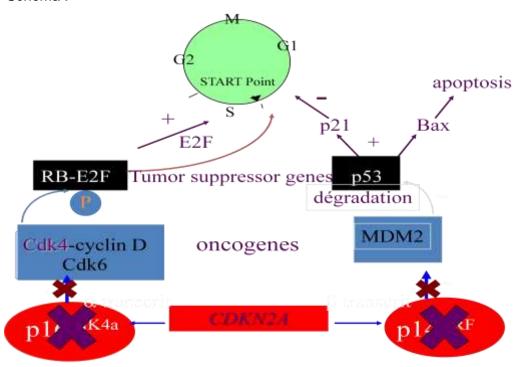
- -les formes familiales surviennent ieune
- -syndrome naevus atypique 50%
- -mélanome multiple 12 à 40%
- -cheveux roux

Gènes de prédisposition majeurs :

- Transmission autosomique dominante
- Forte pénétrance 40-60%
- 3 gènes de susceptibilité CDKN2A en 9p21, CDK4 en 12q14, BAP1

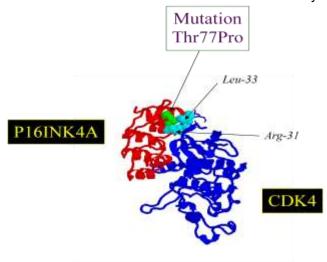
1. Le gène CDKN2A

Schéma:



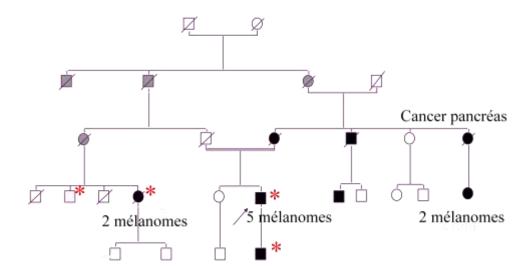
CDKN2A est le gène de prédisposition au mélanome. On a vu au début du cours que ce gène contrôlait de manière négative la prolifération cellulaire. Quand ce gène est muté càd que les protéines soit p14 soit p16 soit les deux sont anormales ou ne sont plus produites, alors ces deux complexes CDK4 et MDM2 sont activés et donc cela entraine une activation du cycle cellulaire.

La mutation (par exemple mutation sur Thr 77 pro) peut être située au niveau du site d'interaction entre p16 et CDK4, ce qui fait que p16 ne pourra plus se fixer à CDK4 correctement et donc la cycline D1 pourra se fixer à CDK4 et entrainer une activation du cyclé cellulaire.



Exemple caricatural d'une famille prédisposée au mélanome :

Mutation CDKN2A Ala68Leu



Sur cet arbre on peut voir plusieurs de ces individus ont fait plusieurs mélanomes (tumeur rare) donc la probabilité de faire des mélanomes est importante cela montre bien qu'il y a forcement une origine génétique ici.

Beaucoup d'études ont été faites sur le mélanome familial : 20 à 30% des familles de mélanome sont mutées, ces mutations ségrègent le phénotype.

Implications de CDKN2A:

- ✓ CDKN2A ne prédispose pas seulement au mélanome, il prédispose aussi au **cancer du pancréas**, très souvent on a un **sur risque multiplié par 13** de cancer du pancréas dans les familles mutées. Dans une famille dans lequel où il y a déjà eu un cancer du pancréas, il faut proposer une IRM et un scanner de dépistage avant 40ans chez les sujets porteurs de la mutation.
- √ Mélanome multiple sporadique : mutation germinale 6 à 10% des cas
- ✓ Cancer epidermoïde , K sein, myelome ?

Risque de cancer dû à la mutation CDKN2A dans les familles predisposées aux mélanomes:

• La fréquence génétique dépend de la **localisation géographique**; environ 60% a l'âge de 80ans en Europe, 75% aux USA **et plus de 90% en Australie**.

Pourquoi particulièrement en Australie ?

- -risque lié à l'exposition solaire (UV)
- -un gène MC1R associé à la couleur rousse des cheveux est beaucoup plus souvent muté chez les australiens
- Le risque du cancer du pancréas est de 15% à 80ans dans certaines familles

Cancer du pancréas et mutation de CDKN2A :

De temps en temps on a des familles sans mélanome avec que des cancers du pancréas.

- Cancer du pancreas familial 3.3%
- Cancer pancreas + apparenté melanoma 5.5%
- Pénétrances est d'environ 60% à l'âge de 80ans
- Il y a une attitude à avoir qui est (très) facile, c'est d'arrêter de fumer car le risque est multiplié par
 25 chez les fumeurs mutés.

2. CDK4 et mélanome familial : second gène de prédisposition, moins impliqué que CDKN2A

Il subit **2 mutations germinales dans l'exon2**. Ce n'est pas un gène suppresseur de tumeur mais un **oncogène** donc c'est une mutation activatrice de ce gène.

Ce qui est important de savoir pour nous:

- Quels sont les patients et les familles concernées ?
- Quand adresser un patient en consultation d'oncogénétique ?
- Quelles sont les modalités de prise en charge et la législation ?

On revient à l'arbre précédent : page 22

<u>Faut il proposer un test génétique dans ces familles là chez les enfants de moins de 18ans ?</u> La réponse est NON!

- -puisque le mélanome est exceptionnel avant l'âge de 18ans dans les familles p16+.
- -Risque d'un impact psychologique d'un « étiquetage » muté dans une fratrie.
- -Donc on ne le propose pas en raison de **l'absence de bénéfice directe** car la protection et la surveillance (en vue d'un dépistage précoce) doit être la même chez tous les enfants (sinon discrimination entre les porteurs et non porteurs).
- -grand risque de perdre la compliance chez les ados p16-
- important de laisser le libre choix à la personne

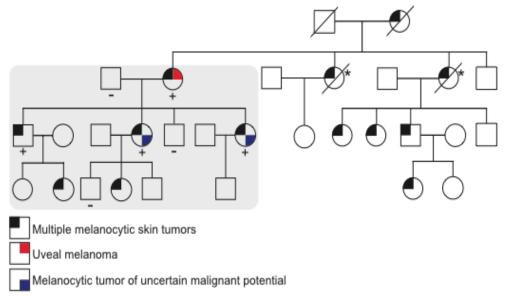
En revanche, si on se rappelle la polypose familiale, qui démarre extrêmement tôt (avant 18ans) on peut tout à fait proposer un test génétique pour rechercher une mutation du gène APC.

3. Le gène BAP1 :

Nouvelle mutation récemment identifiée. Ce travail a été publié dans la revue Nature genetic et concernait seulement 2 familles avec un phénotype tout à fait particulier : les personnes étaient couvertes de grains de beauté (nevus dermique), mais les grains de beauté avaient un aspect inhabituel, à la fois macroscopiques (couleur peau à brun orangé de 5mm) et aussi histologique : larges vésicules nucléaires de tailles inégales appelées « spitzoïde » pas forcément malignes

Surtout au sein de ces familles il n'y avait pas tellement de tumeurs mégalocytaires cutanées mais plutôt des mélanomes occulaires , de la choroïde (++).

Exemple d'une de ces familles :



Les rectangles noirs supérieurs gauches : le phénotype de ces nombreux mélanomes cutanés Les rectangles rouges supérieur droit : le malade ayant développé un mélanome de la choroïde Les Rectangles bleus : tumeur avec une malignité incertaine

Identification de mutations constitutionnelles de BAP1 :

D'abord réalisation d'une **CGH** sur la tumeur pour rechercher s'il n'y avait pas des anomalies au niveau de certaines régions chromosomiques en comparant l'ADN tumoral à un ADN normal. On s'est rendu compte que sur le bras court du chromosome 3 la quasi-totalité des tumeur ont été identifié ici par la CGH arrays. Le profil est normal , sauf sur une région part du chromosome 3 , et avec une technique **NGS** (séquençage nouvelle génération) a été séquencé cette région de chromosome (+ de 600 gènes) , et on a pu caractériser les mutations de ces gènes.

Quel est le rôle de BaP1 dans l'oncogenèse du mélanome ?

- plus d'une centaine de mélanomes (156)
- séquençage BAP1
- mutations BAP1 dans : 40% UMM = uvéal mélanome (mélanome oculaire)
 - -11% des naevus de spitzatypiques
 - -5% des mélanomes cutanés

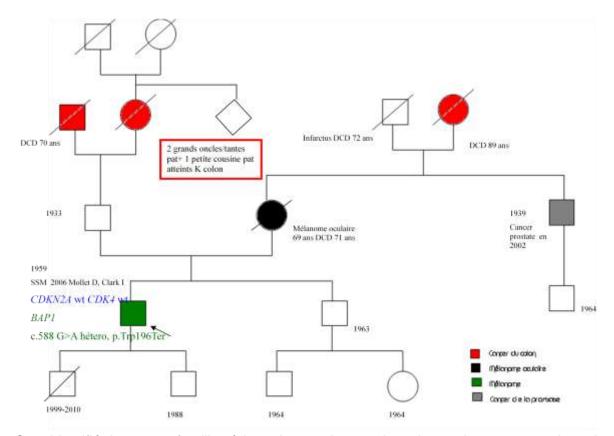
BAP1 est partenaire de BRCA1 (gène de prédisposition au cancer du sein), qui est une enzyme déubiquinante.

Il est lié à HCF1 impliqué dans la phase de transition du cycle cellulaire G1/S et dans la réponse aux dommages de l'ADN, l'apoptose, la sénescence .

BAP 1 est aussi un gène de prédisposition au mésothéliome.

La transformation du naevus en mélanome est associée à une perte de BAP1 (perte du 2^e allèle par délétion ou mutation ponctuelle.

Notre expérience : on a une 15aine de familles de mélanomes dont au moins un apparenté atteint de UM (uvéal mélanome) et on a détecté 3 mutations.



On a identifié dans cette famille où le patient avait un vrai syndrome de naevus atypique. Les gènes CDKN2A et CDK4 étaient sauvages (pas de mutation) et sur le gène BAP 1 on a trouvé une mutation stop ce qui tronque la protéine. Ce patient est décédé d'un mélanome de la choroïde.

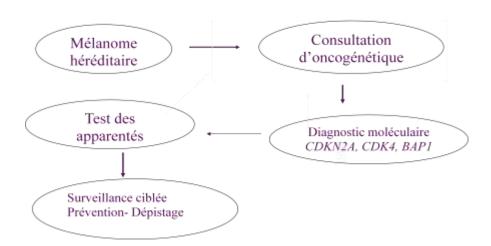
(Le prof a sauté une diapo disant que ce n'était pas important, je ne la mets pas car elle est vraiment inintéressante ... pour les curieux c'est la diapo 86)

Les indications du test génétique : (à retenir) Seuil de 10% de détection de mutation

- 1) Mélanome Cutané
 - Au moins 2 cas de mélanomes invasifs sur la même branche parentale
 - Au moins 2 mélanomes invasifs chez la même personne
 - Un cancer du pancréas peut remplacer un mélanome (chez un apparenté)
- 2) Mélanome Oculaire
 - Mélanome de la choroïde familial (1 ou plusieurs)
 - associé à mélanome cutané dans la famille
 - associé à mésothéliome dans la famille
 - →dans ces 3 situations, il faut étudier le gène BAP 1

Le conseil génétique : schéma recap

Conseil génétique



La surveillance est extrêmement drastique afin de pouvoir dépister tous les mélanomes débutants, à savoir que le mélanome lorsqu'il est retiré, on guérit dans 99% des cas. :D

Les recommandations du groupe d'experts :

Famille CDKN2A mutée, patient CDKN2A muté asymptomatique :

- examen dermatologique tous les 6 mois en milieu hospitalier+++
- Idéalement, examen en **vidéodermoscopie*** numérique à M0, M3 et M12, puis annuelle et photographie corporelle totale annuelle.
- surveillance sans limitation d'âge, à vie.
- *Vidéodermoscopie : petit ordinateur avec une sonde photographie qui va permettre de prendre en photo et de garder en mémoire tous les grains de beauté et de les comparer à ceux pris en photo dans la consultation ultérieure.

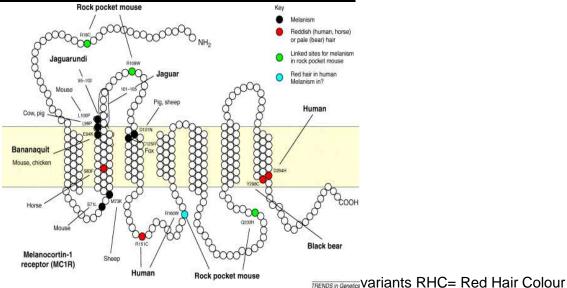
Le mélanome familial (à forte pénétrance) : une maladie multifactorielle

- Multiples allèles de prédisposition
- chacun des allèles a une Faible pénétrance
- Gènes de Pigmentation : MC1R, MATP, ASIP, TYR, TYRP1,...
- Gènes de **Réparation de l'ADN** (ATM, POLH, ..)
- Gènes Immunité (FAS, CASP8, ...)
- FDR cliniques: phototype I-II, cheveux clairs,

Yeux clairs, nb élevé de nevus, taches de rousseur

• Interaction avec l'exposition UV pour faire intervenir le risque de mélanome

Exemple du gène MC1R =melanocortin 1 receptor :



Ce gène code pour un **récepteur à 7 domaines transmembranaires**, le ligand de ce récepteur étant le l'hormone FMSH (sécrété par l'hypophyse) .Donc quand on va au soleil, il y aura un signal au cerveau pour secréter cette hormone, qui va aller se fixer sur son récepteur et cela va entrainer la production de mélanine.

Au niveau de l'enchainement des AA qui constitue la protéine transmembranaire, on a des **variations inter individuelles de résidus d'AA** qui sont donc différents d'un individu à l'autre. Cela implique que les réponses aux UV ne sont pas les mêmes chez tout le monde.

Notamment chez les roux puisqu'ils ont 2 variants caractéristiques : les variant RHC= red haire colour, (déjà présent chez l'homme de Neandertal) . Le problème c'est que ces variants RHC, confèrent un risque de mélanome.

Variants MC1R RHC et risque de mélanome

D84E - R142H - R160W - R151C - D294H

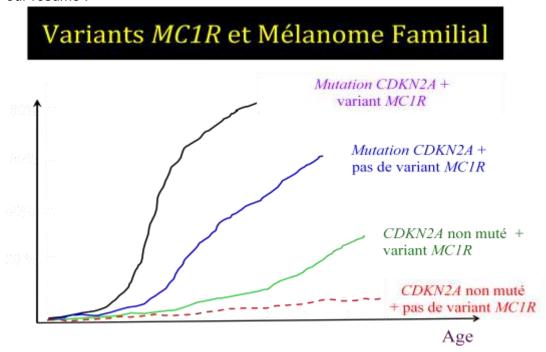
MC1R genotype	Cases	Controls	P-value	OR [CI]
0/0	563	1052		reference
1/0	347	568	3.38 x 10 ⁻¹⁸	2.05 [1.72-2.44]
1/1	52	77	(4.19 [2.66-6.60]

Tableau obtenu grâce a une étude cas-témoins. La p-value qui la difference statistique entre les malades et cas contrôles est hautement significative :3.38 *10¹⁸.

Et on peut voir sur le tableau que le risque si un de ses parents a une mutation ça augmente le risque de 2.05 et si les deux parents sont atteints ça multiplie par 4.19 le risque.

On peut faire Analyse multivariées représentées dans le tableau, et on peut dire que les variants MC1R sont des facteurs de risque independant de mélanome.

Pour résume :



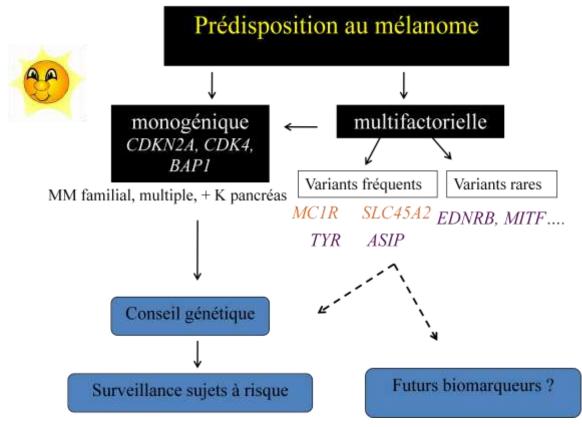
La situation la plus à risque correspond à la courbe la plus haute et la situation la moins a risque à celle en pointillé.

On a 3 nouveau locus susceptible de mélanome identifié l'année dernière ATM, SNP dans MX2, Snp au niveau des CASP8).

Pour récapituler tous les locus qui confèrent faible risque ou un risque intermédiaire :



Schéma recap:

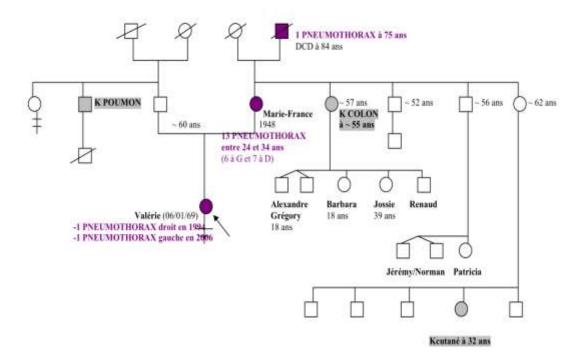


C. <u>Forme syndromique de prédisposition de cancer :</u> <u>Le syndrome de Birt Hogg Dubé : (BHD)</u>

Examen clinique chez Valérie : Lésions cutanées indolores, essentiellement sur le visage pas la seule à en avoir dans sa famille. A la biospie le follicule pilleux est complétement détruit , désorganisé et remplacé par une fibrose collagène et on fait le diagnostic de **fibrofolliculome**

Ensuite on fait un arbre:

- 1) Quels examens demander?
- Chez Valérie
- Chez sa mère M-France, le reste de la famille
- 2) Comment organiser le conseil génétique ?



On se rend compte que valérie a aussi fait 2 pneumothorax, que sa mère 13 pneumothorax, atdc de cancer du colon dans la famille, cancer du poumon.

Cette patiente (cas index) est porteuse d'un syndrome de BHD qui est une forme de prédisposition syndromique au cancer du rein.

- -Il faut réalise un Test génétique après consentement éclairé en consultation d'oncogénétique,
- -Scanner rénal, scanner thoracique, coloscopie.

En cas de mutation: **Diagnostic pré-symptomatique** chez ses apparentés, puis examens complémentaires en fonction du résultat

Chez sa mère on va réaliser un TDM thoraco-abdominal et une coloscopie.

Donc pour résumer ce syndrome de BHD :

- Transmission autosomale dominante
- Fibrofolliculomes parfois peu visibles, des trichodiscomes, et des acrochordons
- **Tumeurs du rein**: oncocytomes, tumeurs hybrides (chromophobes, papillaires, cellules claires, ...) bilatérales ou multifocales.

On fait un examen dermatologique et histologique systématique à **des tumeurs bénignes et malignes** qui ont été rapporté dans ce syndrome mais ce n'est **pas constant**. (je vous ai mis la diapo avec les détails des tumeurs mais le prof ne les as pas cité, ce qui est important de savoir je pense c'est qu'on retrouve ces tumeurs dans ce syndrome mais pas de manière constante) Tumeurs Bénignes

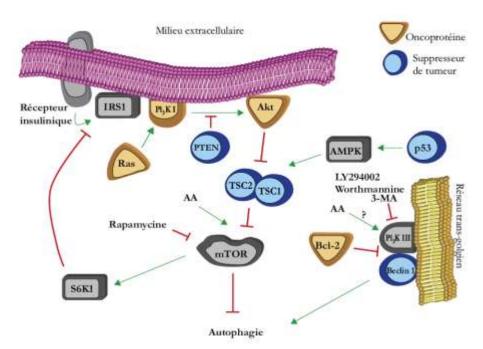
- Goître multinodulaire,

- Adénome and oncocytome de la parotide
- Trichoblastome
- Mucinose, lipome, angiolipome
- léiomyome cutané

Tumeurs Malignes

- Cancer sein, sarcome jambe
- Cancer langue, cancer poumon,
- Mélanome, CBC, carcinome épidermoïde, dermatofibrosarcome
- Léiomyosarcome cutané
- Pneumothorax et/ou emphysème bulleux qui lui est constant (++) → vu au scanner thoracique
- un sur risque de Cancers colo-rectaux.

La physiopathologie de ce syndrome :



la folliculine est un gène suppresseur de tumeur qui intervient dans la voie de la PI3K (calcium)

Genetique BHD:

- Mutation germinale du gène de la *folliculine* retrouvée dans 50 % à 80% des cas
- chromosome 17p11.2
- Point chaud dans l'exon 11 car il y a un stress de GC
- Délétions germinales dans 15-20% des cas (important+++)

Bilan initial dans le BHD:

- Biopsie cutanée +++
- Diagnostic moléculaire, confirme le dignostique
- TDM abdominopelvien, poour etre plus précit : uroscanner
- TDM thoracique initial (pour l'emphysème)
- Coloscopie

Conseil génétique

• Mutation identifié chez le cas index:

Diagnostic présymptomatique chez les apparentés +++

- Si mutation:
- -On va surveiller par Scanner abdominopelvien initial puis echo ou TDM annuel
- Puis on propose une Coloscopie tous les 2 ans
 - Absence de mutation: pas de suivi particulier
- 2 Mutation non identifiée chez le cas index:

Surveillance par échographie et coloscopie de tous les apparentés.