

**LES ONCOGENES ET LEUR ROLE
DANS LA GENESE DES CANCERS EN
PATHOLOGIE VETERINAIRE**

1. LES PROTO-ONCOGENES ET ONCOGENES: DONNEES GENERALES

1.1 Définitions

Les *proto-oncogènes* (appelés aussi *c-onc*) sont des gènes présents normalement dans le génome cellulaire, et dont la modification qualitative ou quantitative de l'expression induit un phénomène de cancérisation de la cellule (Contran *et al.*, 1999). Très bien conservés au cours de l'évolution, ils n'ont aucune spécificité d'espèce : ils se retrouvent dans les cellules de multiples organismes, vertébrés supérieurs et inférieurs, invertébrés et même eucaryotes unicellulaires comme la levure, tout en conservant une structure biochimique inchangée. Cette haute conservation phylogénétique rend compte de l'importance de ces gènes dans les mécanismes fondamentaux de la vie des cellules comme le contrôle de la prolifération, de la croissance et de la différenciation cellulaire. L'expression de chacun est variable au cours des grandes phases de la vie de la cellule. Ainsi, pour un oncogène donné, il existe des périodes pendant lesquelles il est inactif et reste réprimé dans le génome cellulaire. Néanmoins, il pourra être dérégulé lors de certaines circonstances, telles que la régénération cellulaire et tissulaire (ex : réparation d'une plaie).

Du fait de leur rôle dans le contrôle de la prolifération et la différenciation cellulaire, toute anomalie dérégulée, qualitative ou quantitative, de l'expression d'un proto-oncogène orientera la cellule vers un développement anarchique (trouble de la multiplication et de la différenciation). Ce gène devient alors *oncogène* "qui génère une cancer" (cancer = *onkos* en grec).

1.2 Généralités sur le cycle cellulaire et la prolifération

On distingue dans l'organisme trois types de populations cellulaires en fonction des rapports qu'elles entretiennent dans les tissus, vis-à-vis du cycle cellulaire :

- les cellules en prolifération continue,
- les cellules quiescentes, qui sont momentanément sorties du cycle (dans une phase appelée G0), mais qui pourront y entrer à nouveau après un événement particulier,
- les cellules non prolifératives : contrairement aux cellules quiescentes, ces cellules ont perdues définitivement la capacité de se diviser.

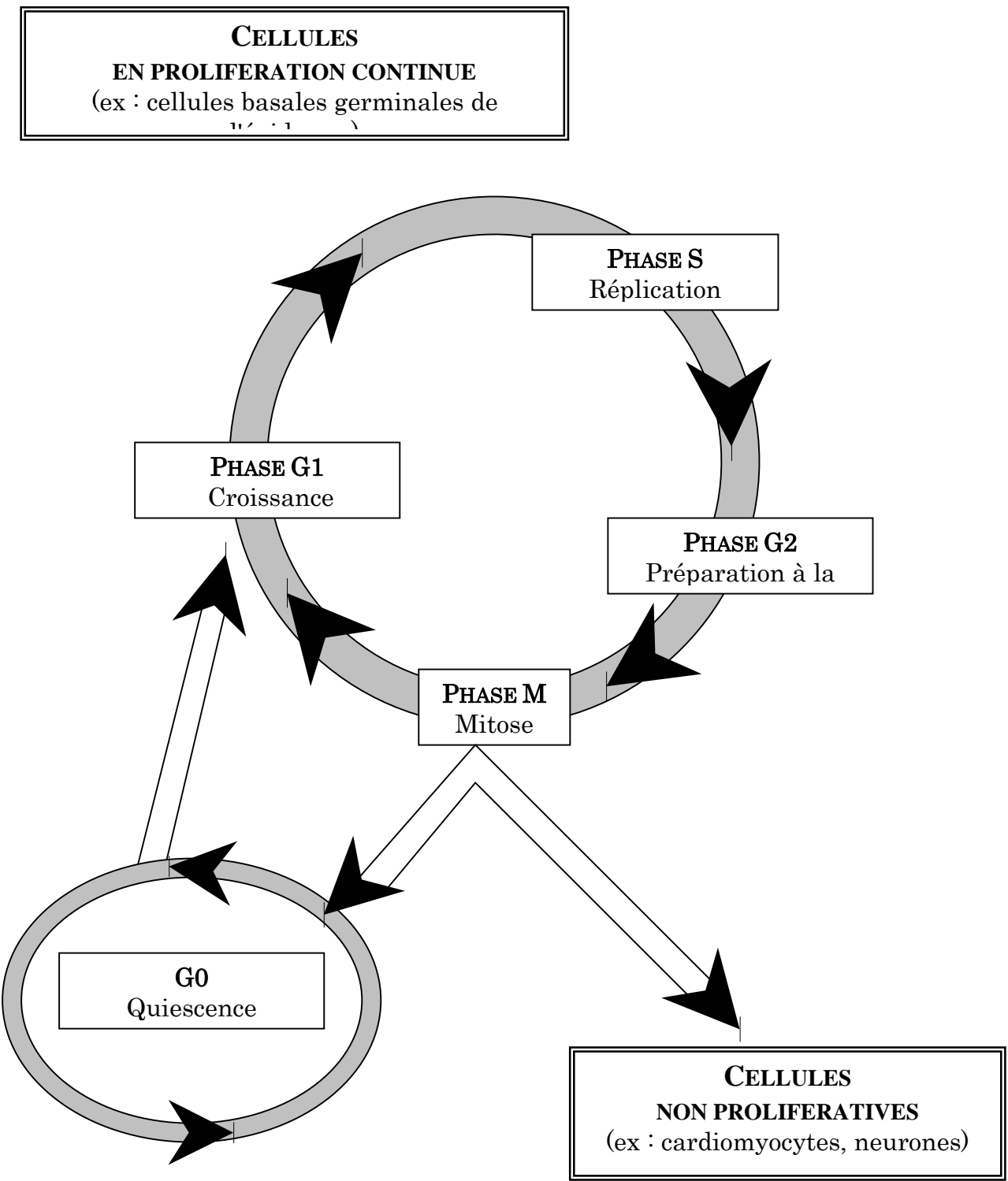


FIGURE N°1 : Populations cellulaires dans l'organisme et phases du cycle cellulaire (d'après Contran *et al.*,1999)

Les deux premières catégories cellulaires parcourent donc de façon continue ou intermittente le cycle cellulaire. Classiquement, le cycle de prolifération cellulaire (**Figure n°1**) est divisé en quatre phases successives :

- Phase G1 ou phase de pré-synthèse : elle débute à la fin de la mitose, pour les cellules en cycle continu, et s'étend jusqu'à l'initiation de la synthèse d'ADN. La durée de cette phase est très variable et diffère en fonction du type cellulaire et des conditions du milieu. Cette phase G1 est généralement plus courte dans les populations cellulaires en prolifération continue et plus longue pour les cellules sortant de l'état quiescent (G0). Elle correspond à une phase de croissance cellulaire, avec synthèse de beaucoup de protéines et de nucléotides nécessaires à la réplication et à la réparation de l'ADN. Pendant cette phase, la cellule répond à des facteurs de croissance et des facteurs environnementaux (substances nutritives, encombrement...). Ces signaux régulent la progression en G1 en début et milieu de phase, mais pas en fin. En effet, un point de contrôle appelé "point de restriction" oriente inexorablement la cellule, lorsqu'il est franchi, dans la phase suivante,
- Phase S ou phase de synthèse : cette phase correspond au doublement du taux d'ADN cellulaire par synthèse semi-conservative,
- Phase G2 ou phase de post synthèse: les ARNm et les protéines nécessaires à la mitose sont produits. Un autre point de contrôle entraîne irrévocablement, lorsqu'il est franchi, la cellule en mitose,
- Phase M ou phase de mitose, correspondant à la phase de division cellulaire proprement dite, permettant d'obtenir deux cellules filles identiques à partir d'une cellule mère.

La modulation de l'activité de prolifération cellulaire est indispensable durant le développement embryonnaire et pendant la vie adulte afin d'assurer la pérennité fonctionnelle des organes. La biologie cellulaire a permis de comprendre les mécanismes moléculaires fondamentaux impliqués dans la prolifération cellulaire et sa régulation.

L'entrée dans le cycle cellulaire est contrôlée par des facteurs chimiques. Ces facteurs chimiques sont des facteurs de croissance ou des hormones présents dans le micro-environnement cellulaire. Appelés également "ligands", ils se fixent de façon spécifique sur des récepteurs. L'association du ligand au récepteur initie une réponse cellulaire spécifique susceptible de conduire la cellule à la division.

TABLEAU I : Principaux oncogènes identifiés chez l'homme
D'après Contran *et al.* 1999 ; Damjonov *et al.*, 1997.

CATEGORIE	PROTO-ONCOGENE
Facteurs de croissance	
Chaîne β du PDGF	<i>sis</i>
Facteurs de croissance fibroblastique (FGF)	<i>hst-1 hts-2</i>
Récepteurs aux facteurs de croissance	
Famille des récepteurs à l'EGF	<i>erbB-1, erbB-2 (neu, HER-2), erbB-3</i>
Récepteur au CSF de type 1	<i>fms, ret</i>
Récepteur à l'hormone thyroïdienne	<i>erbA</i>
Protéines impliquées dans la transduction du signal	
Protéines à activité GTPase	<i>ras, N-ras, K-ras, H-ras</i>
Tyrosine kinase non associée à un récepteur	<i>abl, yes, src, fgr, met, ,fps</i>
Thréonine et sérine kinase non associée à un récepteur	<i>raf, mos</i>
Protéines apparentées à la phospholipase C	<i>crk</i>
Protéine de régulation de la transcription	
Activateurs de la transcription	<i>c-myc, N-myc, L-myc, myb, jun, fos,</i>
Régulateurs du cycle cellulaire	
Cyclines	<i>Cyclin D</i>
Kinase cycline-dépendante	<i>CDK4</i>
Gène régulant l'apoptose	<i>bcl-2</i>

PDGF : platelet-derived growth factor,
EGF : epidermal growth factor,

CSF, colony-stimulating factor,
GTP, guanosine triphosphate.

Cette initiation, correspondant à la formation du couple récepteur-ligand à la surface cellulaire, est à l'origine d'une cascade de signaux intracellulaires appelés "transduction du signal". Quel que soit le mécanisme mis en jeu (spécifique du couple récepteur-ligand), le système de transduction induira une modification spécifique dans la régulation de certains gènes, appelés facteurs de transcription. Ces facteurs sont capables eux-mêmes de se fixer en des sites spécifiques de l'ADN cellulaire, favorisant ainsi l'activité transcriptionnelle en l'occurrence ici de gènes codant pour des acteurs spécifiques du cycle de prolifération.

La plupart des proto-oncogènes codent pour des polypeptides ou des protéines (appelées oncoprotéines) impliqués dans la transmission des signaux intra et intercellulaires, en particulier dans la transduction du signal prolifératif, et sont de ce fait impliqués dans la régulation de la croissance, de la prolifération ou de la quiescence cellulaire (Contran *et al*, 1999).

1.3 Proto-oncogènes et onco-protéines

Parmi ces onco-protéines, protéines issues de l'expression des proto-oncogènes, on trouve des facteurs de croissance, des récepteurs membranaires ou cytoplasmiques, des facteurs de transcription, des régulateurs du cycle cellulaire ou encore des inhibiteurs de la mort cellulaire programmée, ou apoptose, phénomène biologique correspondant au suicide et à l'élimination de cellules indésirables par l'activation d'un mécanisme interne coordonnée sous dominance des gènes cellulaires (**Figure n°2, Tableau I**).

1.3.1 Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont des polypeptides qui interagissent avec des protéines membranaires, récepteurs spécifiques de ces facteurs. Quelle que soit la cellule cible, le message va déclencher une réponse coordonnée spécifique. Cette action a lieu majoritairement pendant la phase G1 du cycle cellulaire et orientera celle-ci vers la division, la différenciation ou la quiescence.

L'un de ces facteurs correspond, par exemple, à la chaîne β du PDGF (Platelet Derived Growth Factor), polypeptide produit par les cellules précurseurs des plaquettes (mégacaryocytes), dans la moelle osseuse sous la direction du proto-oncogène *c-sis* (Press *et al.*, 1990).

1.3.2 Récepteurs aux facteurs de croissance

De nombreux oncogènes codent pour des récepteurs membranaires, spécifiques des facteurs de croissance. Ces récepteurs sont des protéines transmembranaires contenant une partie extracellulaire, permettant la fixation du ligand (facteur de croissance), une partie hydrophobe, transmembranaire, permettant l'ancrage du récepteur dans la bicouche phospholipidique, et une partie intracellulaire à activité kinase, c'est à dire à activité enzymatique d'ajout d'un groupement phosphate (sur résidu aminé tyrosine majoritairement, mais aussi thréonine ou serine). La fixation du facteur de croissance sur la partie extracellulaire va induire momentanément l'activité kinase par dimérisation du récepteur, permettant alors la phosphorylation des résidus tyrosine de plusieurs substrats. La phosphorylation de ces substrats est responsable d'une cascade d'événements intracellulaires nommée transduction du signal. Parmi ces récepteurs, la famille des récepteurs aux facteurs de croissance épidermique (ou EGF pour epidermal growth factor) constitue des proto-oncogènes bien connus : gènes *erb-B1*, *erb-B2*, *erb-B3* (Maguire et Greene, 1989).

1.3.3 Protéines de transduction du signal

Lorsqu'un récepteur cellulaire reçoit un facteur de croissance, celui-ci induit une cascade de signalisation intracellulaire basée sur la modification de conformation et/ou l'activation moléculaire de protéines intracellulaires, dites " impliquées dans la transduction du signal ". Cette cascade passe en particulier par la phosphorylation séquentielle de molécules de signalisation intermédiaire, aboutissant à terme à l'activation de protéines capables de translocation nucléaire. La protéine Ras, codée par le proto-oncogène *ras*, constitue l'une des ces protéines transduisant le signal de prolifération intracellulaire. Après liaison de cette protéine à un récepteur activé, le site actif de Ras est alors libéré et un GTP peut venir se fixer.

L'hydrolyse du GTP en GDP et monophosphate permet l'activation de Raf-1, autre protéine de signalisation, et stimule une cascade de signalisation mitotique (Stacey, 1988).

1.3.4 Facteurs de transcription

Le terme de la cascade de signalisation décrite ci-dessus converge vers une même localisation, le noyau cellulaire, où elle régule directement l'expression de certains gènes par l'intermédiaire de facteurs capables d'interférer avec l'activité de transcription de l'ADN. Ces facteurs, appelés facteurs de transcription, contiennent des séquences d'acides aminés spécifiques ou des motifs particuliers (structure hélice-boucle-hélice, motif en doigt de zinc...) qui leur permettent de se fixer sur des régions spécifiques de l'ADN et d'induire la transcription des gènes "en aval".

Un certain nombre de proto-oncogènes codent pour des facteurs de transcription. Le plus connu est le proto-oncogène *c-myc*. De nombreux travaux ont montré l'implication de *c-myc* dans le contrôle de la prolifération cellulaire. Il est notamment connu pour être un des gènes les plus rapidement induits en présence de facteurs de croissance. Le produit d'expression de *c-myc* est une phosphoprotéine nucléaire comportant de longues chaînes d'acides aminés acides et basiques lui conférant une structure tertiaire inhabituelle, qui lui permet de se lier à l'ADN. Elle s'associe à une autre protéine : Max. L'hétérodimère Myc/Max est capable de se lier à une séquence de nucléotides spécifiques induisant ainsi la transcription des gènes contenant cette séquence particulière (Slamon *et al.*, 1986).

1.3.5 Régulateurs du cycle cellulaire

La progression des cellules au cours du cycle cellulaire, en particulier lors des événements fondamentaux que représentent la phase S et la phase M, est régulée par une activation et une inactivation séquentielles de protéines appelées CDKs, ou kinases cycline-dépendantes. Les CDK sont, chez les mammifères, au nombre de huit, numérotées de CDK1 à CDK8 (Lees, 1995). Ces CDK régulent le passage d'une phase du cycle à une autre et jouent ainsi un rôle majeur dans la prolifération, la sénescence et la quiescence cellulaire. Les transitions à travers les différentes phases sont contrôlées par la phosphorylation de cibles spécifiques de ces kinases. Par définition, ces protéines n'agissent pas seules : leur fonction est étroitement liée à celle de protéines appelées cyclines.

Les cyclines appartiennent à 9 familles, dénommées de A à I. Ce sont des protéines composées de plusieurs sous-unités dont une qui possède une activité de type tyrosine phosphatase. L'activation des CDK requiert l'association d'une cycline à leur sous-unité catalytique. Il se forme alors un dimère protéique : cycline-CDK.

Les CDK sont des onco-protéines, et elles interagissent avec les différentes cyclines qui sont elles-mêmes des onco-protéines (Sedlacek *et al.*, 1996). Par exemple, la formation du couple CDK4-cycline D permet la phosphorylation de divers substrats, agissant pendant la phase G1 du cycle cellulaire, et permettant la progression et la transition vers la phase S.

1.3.6 Inhibiteurs d'apoptose

De nombreux gènes codent pour des protéines qui interviennent, non pas dans la prolifération mais dans le processus de régulation de l'apoptose ou "mort cellulaire programmée". Certains sont des facteurs pro-apoptotiques, comme *bax* ou *bad*, et l'activent ; d'autres sont anti-apoptotiques, comme *bcl-XL* ou *bcl-2*. L'apoptose est le stade ultime d'une cascade d'événements moléculaires initiée par un ensemble de stimuli et aboutissant à la mort cellulaire. Ces stimuli sont à l'origine de l'activation d'enzymes protéolytiques, les caspases. Cette activation est régulée en particulier par la protéine Bcl-2 de façon indirecte, via le cytochrome C, présent dans la mitochondrie. Outre son rôle de transporteur d'électrons, ce cytochrome semble capable d'influencer l'activation des caspases lorsqu'il est présent dans le cytoplasme. Bcl-2 inhibe l'apoptose en régulant négativement la sortie du cytochrome C de la mitochondrie vers le cytoplasme. Ainsi, le gène *bcl-2* peut être considéré comme un proto-oncogène, régulant positivement la survie cellulaire en inhibant l'apoptose (Hanada *et al.*, 1995).

Ainsi, les proto-oncogènes interviennent à différents étapes de la régulation de la prolifération cellulaire normale, globalement en tant que promoteur. Une altération de la séquence d'un proto-oncogène pourra se traduire par une modification qualitative ou quantitative de son expression, le transformant alors en oncogène.

2. DU PROTO-ONCOGENE A L'ONCOGENE

2.1. Le cancer : une maladie du gène

Le cancer est une maladie due à une altération d'un ou plusieurs gènes qui transforme une cellule normale en une cellule tumorale. Les facteurs cancérigènes sont très nombreux et il est d'usage de distinguer des facteurs exogènes tels que des substances chimiques, les rayonnements, les agents biologiques (virus), et des facteurs endogènes comme le terrain génétique, le statut hormonal ou immunitaire, ces différents facteurs agissant souvent de façon intriquée et dépendante. La survenue et la progression d'une tumeur maligne sont le résultat d'une accumulation d'événements génétiques complexes, consécutivement à l'action de ces facteurs cancérigènes. Les altérations dues à l'action des carcinogènes sont plus ou moins lourdes de conséquences, suivant leur localisation au niveau de l'ADN. Ainsi, la cancérisation est observée lorsque cette altération intervient sur des gènes impliqués dans le contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaire. Ces gènes interviennent dans la progression et la régulation du cycle cellulaire, parmi lesquels les proto-oncogènes qui le contrôlent de façon positive. De nombreuses études se sont orientées vers la caractérisation et la détection *in situ* du produit de transcription (ARNm) et/ou de traduction (protéines) de ces proto-oncogènes. Elles ont permis de déterminer au moins partiellement les mécanismes d'activation de ces gènes. Elle peut intervenir lors de modification qualitative du gène, avec modification de la structure du gène, mais aussi lors de modification quantitative, avec modification de l'intensité de son expression. Par exemple, l'amélioration des techniques de cytogénétique a permis de reconnaître, parmi les très nombreuses anomalies chromosomiques retrouvées dans différents types de cancers, la spécificité de certains remaniements non aléatoires. Quel que soit le mode d'activation des proto-oncogènes, la modification de l'expression du gène altéré qui en résulte agit de façon dominante sur l'activité de la cellule. En effet, la modification d'un seul allèle entraîne la cellule dans un processus cancéreux.

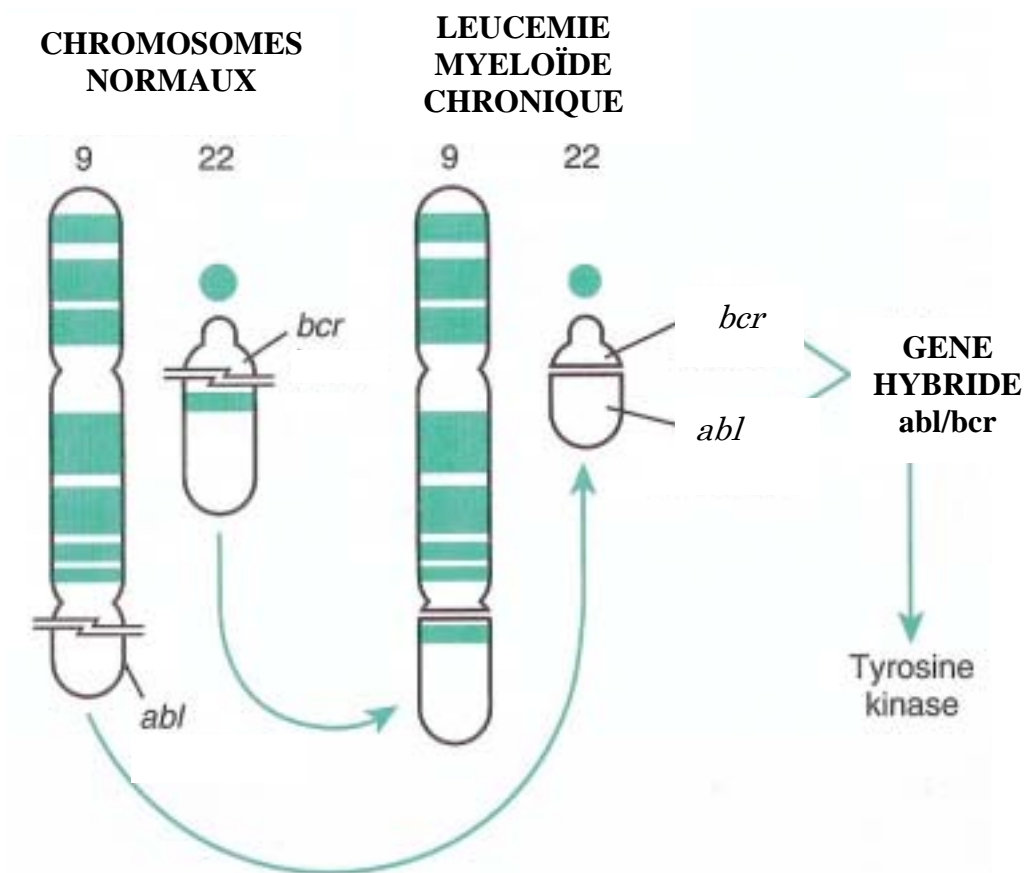


FIGURE N°3 : Activation par création d'un gène hybride

D'après Contrean *et al* 1999

2.2. Modification de la structure du proto-oncogène

2.2.1. Activation par mutation ponctuelle

L'altération d'un proto-oncogène peut correspondre à une délétion, une insertion ou encore une substitution d'une ou plusieurs paires de bases. Des mutations ponctuelles dans les séquences codantes d'un proto-oncogène peuvent modifier l'activité de l'onco-protéine correspondante. En effet, une altération de la séquence d'un gène a des conséquences sur la structure primaire, et très souvent également sur la structure secondaire voire tertiaire de la protéine, celles-ci s'accompagnant d'une modification de son activité.

Cette voie d'activation est tout particulièrement rapportée pour les oncogènes de la famille *ras*. Par exemple, chez l'homme, 90 % des adénocarcinomes pancréatiques et épithélioma cholangiocellulaires, 50 % des cancers du colon, de l'utérus et de la thyroïde présentent une mutation ponctuelle de *ras* (Chien *et al.*, 1990 ; Tsunoda *et al.*, 2004).

2.2.2. Activation par création d'un gène hybride

Résultat d'un échange de fragments d'ADN entre deux chromosomes, une translocation induit la création d'un gène hybride (**Figure n°3**), c'est à dire formé d'au moins deux fragments de gènes différents. La néo-protéine (protéine chimérique), possède une fonction inhabituelle et souvent délétère pour la cellule.

Un exemple bien connu est représenté par la translocation t(9;22) (q34;q11) observée dans la leucémie myéloïde chronique humaine, dans laquelle il y a juxtaposition d'une partie du proto-oncogène *abl* situé en 9q34 et codant pour une protéine kinase et le gène *bcr* (pour breakpoint cluster region) situé en 22q11. La protéine BCR, à localisation cytoplasmique, est impliquée dans la transduction du signal. Sur le chromosome 9, les points de cassure dans le proto-oncogène *abl* sont situés en amont (5') du domaine tyrosine kinase. Cette structure est alors transcrite en ARNm hybride puis traduite en protéine de fusion BCR-ABL. Cette protéine, à localisation modifiée, voit ces propriétés enzymatiques altérées avec renforcement de l'activité tyrosine kinase d'ABL (Dobrovic *et al.*, 1988).

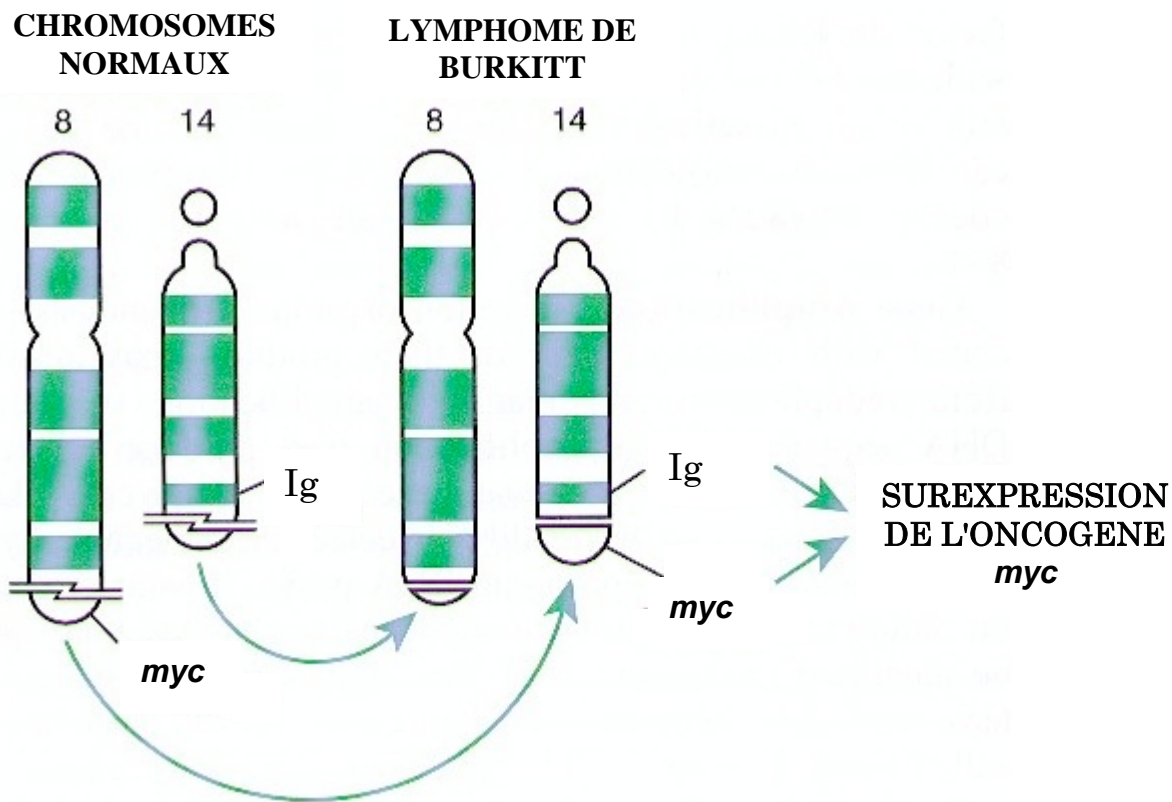


FIGURE N°4 : Activation par recombinaison
D'après Contran *et al.*,1999

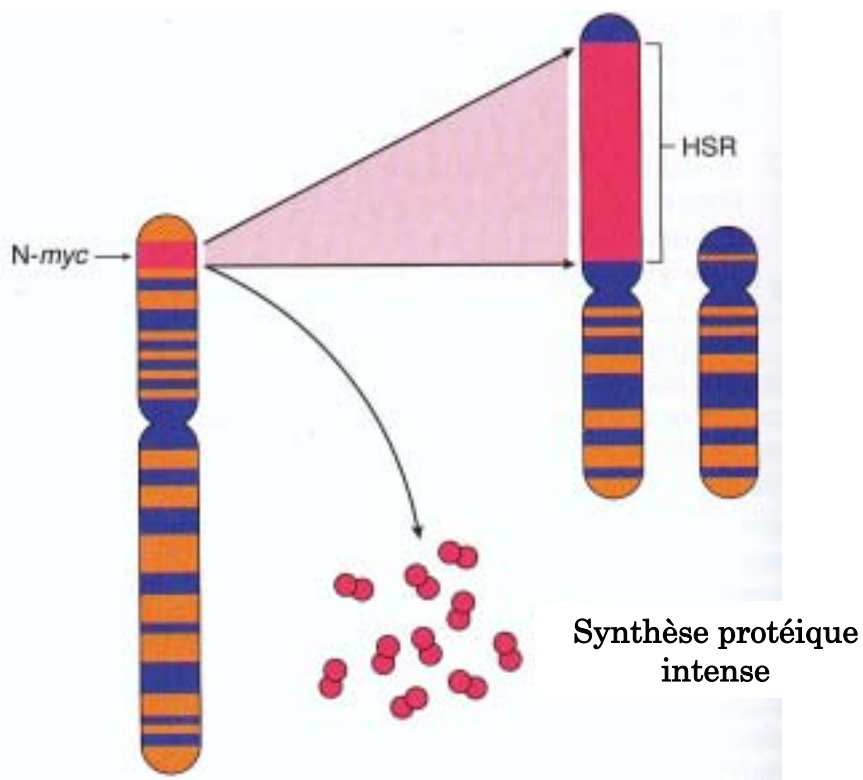


FIGURE N°5 : Activation par amplification génomique
D'après Contran *et al.*,1999

2.3. Modification quantitative de l'expression du proto-oncogène

2.3.1. Activation par recombinaison

Contrairement à la création d'un gène hybride, la translocation induit ici des juxtapositions aberrantes de gènes, sans modification de la structure de chacun (**Figure n°4**). Elle change en particulier l'emplacement et donc l'activité d'un oncogène inactif, en le soustrayant à un site répresseur contigu ou le rapprochant d'un site promoteur.

C'est l'exemple du lymphome de Burkitt, prolifération maligne des cellules lymphoïdes de la lignée B : le proto-oncogène *c-myc*, situé sur le bras long du chromosome 8, se voit déplacé sur le chromosome 2, 14 ou 22, ce qui a pour effet de l'activer anormalement. Dans la translocation (8-14) en particulier, il y a juxtaposition de l'oncogène *c-myc* et d'un gène codant pour les chaînes lourdes d'immunoglobuline (Hamlyn et Rabbitts, 1983). Bien que les mécanismes exacts de l'activation ne soient pas entièrement clarifiés, cette juxtaposition s'accompagne de la surexpression de *c-myc* et la cancérisation de la cellule.

2.3.2. Amplification génomique

Une amplification génomique correspond à une augmentation du nombre de copies d'un gène ou d'un fragment chromosomique. Son existence est soupçonnée en analyse cytogénétique sur la présence de régions chromosomiques se colorant de manière uniforme appelées Homogeneous Staining Regions (HSR) ou se présentant comme des mini chromosomes surnuméraires (chromosomes "double minute"). Les techniques de biologie moléculaire ont permis de montrer que ces anomalies sont à l'origine d'une amplification génique susceptible de concerner certains proto-oncogènes. Une amplification peut aboutir à la production de plusieurs centaines de copies du proto-oncogène dans la cellule tumorale (**Figure n°5**).

Une amplification du gène *erb-B2* et des membres de la famille *myc* (*N-myc*, *L-myc*) est rapportée en particulier dans les cas de certains cancers humains tels que le neuroblastome et les cancers pulmonaires à petites cellules (Heintz *et al.*, 1990 ; Geddert *et al.*, 2002). Le niveau d'amplification semble directement corrélé à la rapidité d'évolution de ces tumeurs.

2.4. Cas particulier de l'activation par les virus oncogènes

L'étude des virus oncogènes a permis en grande partie la compréhension des mécanismes de cancérisation de la cellule. Peu nombreux en médecine humaine, les exemples ne manquent pas en pathologie vétérinaire. Classiquement, ces virus sont classés en deux catégories : les virus à ARN et les virus à ADN.

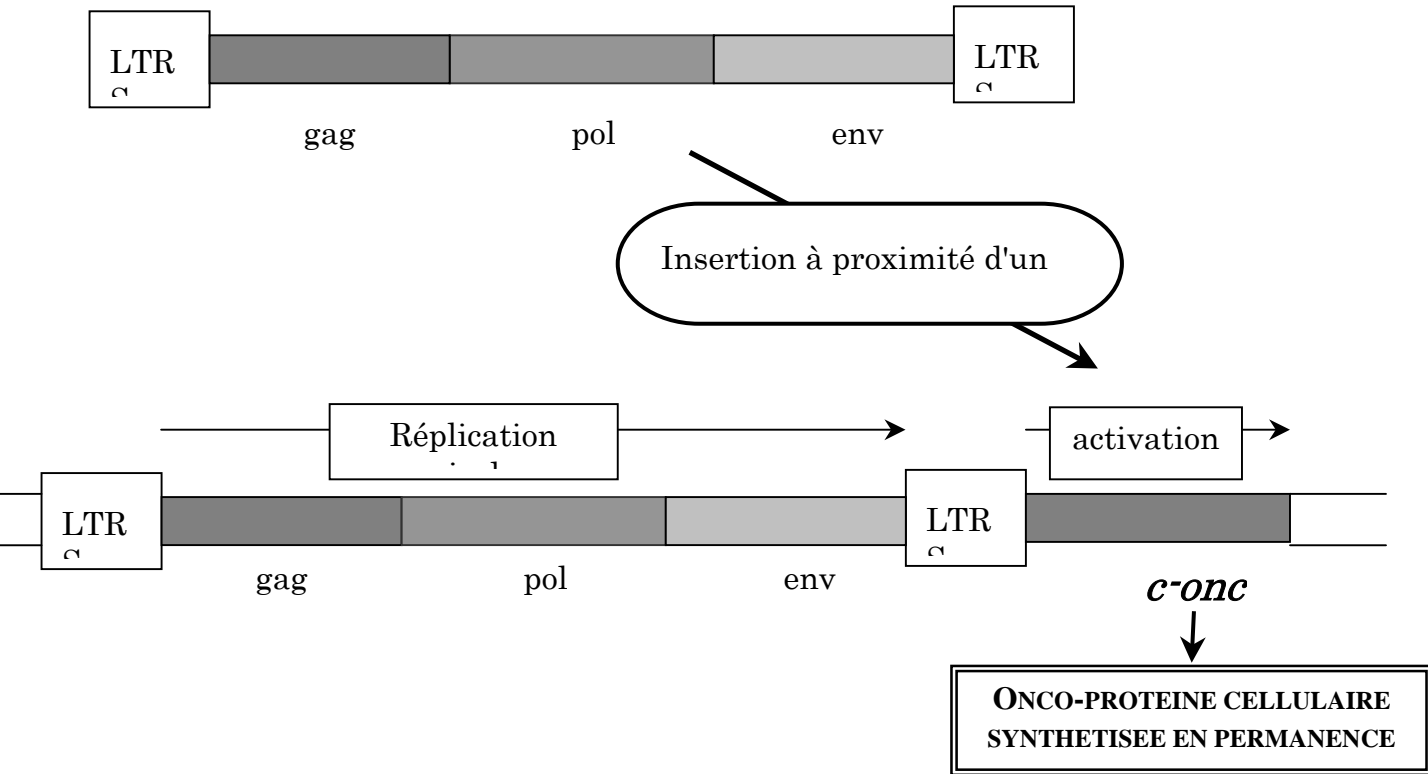
2.4.1. Cas des virus à ARN

Le premier oncogène mis en évidence est un oncogène viral, appelé *sarc*, présent dans le virus du sarcome de Rous ou RSV. Un vétérinaire américain répondant au nom de Peyton Rous a démontré au début des années 1910 la possibilité d'induire une tumeur conjonctive chez une poule à partir d'un filtrat préparé à base d'un broyat de tumeur d'une autre poule. Ce filtrat contenait un virus, dit oncogène, car capable d'induire une tumeur dite viro-induite. Des études ultérieures ont montré que le virus en cause est un rétrovirus capable de s'intégrer dans le génome d'une cellule saine, de la transformer et d'induire un processus cancéreux.

De part et d'autre du génome viral, on note la présence d'une séquence nucléique appelée séquence LTR (ou LTRS pour long terminal repeat sequences = longues séquences terminales répétées) qui jouent un rôle fondamental dans la circulation et l'intégration de l'ADN proviral, ainsi que la régulation de l'expression génétique du génome viral et cellulaire. Ces séquences sont des promoteurs forts de la transcription. Après pénétration du virus dans la cellule hôte, on observe une synthèse d'ADN viral bicaténaire à partir de l'ARN monocaténaire grâce à la reverse transcriptase. Cet ADN est ensuite intégré dans le génome cellulaire, grâce aux séquences LTR.

Certains de ces virus possèdent un gène supplémentaire, appelé *v-*onc**, qui confère au virus son pouvoir oncogène. Les virus possédant ce gène sont dits rapides ou "transformants" : 2 à 3 semaines après le contact, on observe l'apparition de tumeurs viro-induites. Leur génome, grâce aux séquences LTR, est transcrit et traduit de façon intense et continue, ce qui aboutit à la formation d'une grande quantité d'onco-protéines. Cette protéine joue un rôle fondamental dans le processus de cancérisation. Par exemple, la tyrosine kinase issue du gène *sarc* phosphoryle les radicaux tyrosine de protéines avec le radical phosphate qui est fourni par une molécule d'ATP.

A – ACTIVATION D'UN ONCOGENE PAR UN RETROVIRUS NON TRANSFORMANT
(exemple du FeLV : Feline Leukemia Virus)



B - ACTIVATION D'UN ONCOGENE PAR UN RETROVIRUS TRANSFORMANT
(exemple du RSV: virus du sarcome de Rous)

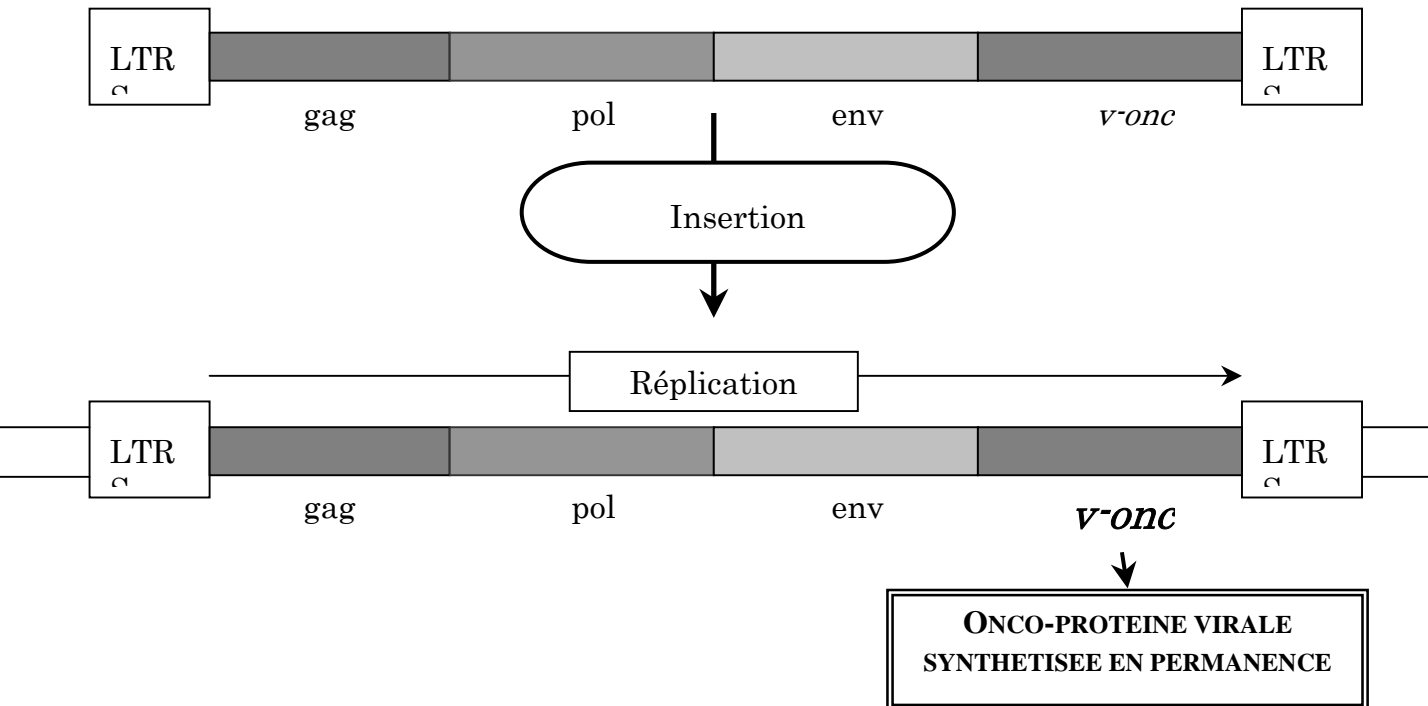


FIGURE N°6 : Mode d'action des virus oncogènes

D'après Damjonov *et al.*, 1996

Comparaison rétrovirus non transformant (A) / transformant (B)

v-onc : oncogène viral ; *c-onc* : oncogène cellulaire ; **LTRS** : long terminal repeat sequences
gag : group specific antigen gene ; *pol* : polymérase ; *env* : glycoprotéine de l'enveloppe virale

Les protéines qui sont phosphorylées sont en particulier des protéines du cytosquelette, agissant ainsi sur l'ancrage des cellules. Ces modifications du cytosquelette font perdre la dépendance d'ancrage des cellules transformées : l'inhibition de contact n'existe plus.

En revanche, les virus non transformants, comme le virus de la leucose bovine, de la leucose féline, ou encore de la leucose aviaire, sont incapables de transformer des cellules en cultures. Leur pouvoir oncogénique est conditionné par leur intégration en amont d'un oncogène pour être transformants. L'insertion du génome viral, et en particulier une séquence LTR, en amont d'un oncogène cellulaire est ainsi à l'origine de sa transcription en continu, aboutissant à la synthèse de l'onco-protéine (Jones *et al.*, 1996). Ainsi à long terme, ils sont capables de provoquer l'apparition de tumeurs.

Ainsi, et quel que soit le virus oncogène en cause, on observe toujours une surexpression de l'oncogène, que celui-ci soit viral (cas des virus transformants) ou cellulaire (cas des virus non transformants) (**figure n°6**).

2.4.2. Cas des virus à ADN

La quasi-totalité des familles de virus à ADN ont des représentants oncogènes.

Parmi eux, les Herpesvirus présentent, excepté le virus de l'adénocarcinome rénal, un tropisme pour les cellules lymphocytaires (maladie de Marek, lymphome de Burkitt...). Dans le cas par exemple du lymphome de Burkitt, l'intégration de l'ADN viral du virus Epstein-Barr est à l'origine d'une recombinaison génique (translocation 8-14) décrite ci dessus (Hausen, 1976). Il en découle une surexpression de l'oncogène cellulaire *c-myc*.

Les Hepdanavirus possèdent eux un tropisme pour les hépatocytes (Hépatite DNA virus). Quelle que soit l'espèce cible, la persistance du virus est à l'origine d'une inflammation chronique pouvant évoluer vers la cancérisation. Les mécanismes moléculaires de cette évolution ne sont pas connus avec précision mais l'hépatite chronique qui résulte de l'infection est accompagnée d'une régénération intense du tissu (Blackberg et Kidd-Ljunggren, 2003). Cette régénération est le lieu de nombreuses divisions cellulaires, ce qui augmente la probabilité de mutation spontanée ou induite par un agent chimique.

TABLEAU II : Principaux oncogènes viraux isolés chez les espèces animales
D'après Jones *et al.*, 1997.

VIRUS	ONCOGENE VIRAL
Virus murins	
Virus de la leucémie murine d'Abelson	<i>abl</i>
Virus de sarcome murin de Moloney	<i>mos</i>
Virus du sarcome d'Harvey	<i>H-ras</i>
Virus du sarcome de Kirsén	<i>K-ras</i>
Virus de l'ostéosarcome JBF	<i>fos</i>
Virus de la tumeur mammaire de la souris	<i>int-1, int-2</i>
Virus du sarcome de la souris 3611	<i>raf (mil)</i>
Virus aviaire	
Virus du sarcome de Rous	<i>src</i>
Virus de la myéloblastose	<i>myb</i>
Virus de la myélocytomatose	<i>myc</i>
Virus de l'érythroblastose	<i>erb-A, erb-B</i>
Virus de la réticulo-endothéliose	<i>rel</i>
Virus du sarcome de Yamaguchi-Esh	<i>yes</i>
Virus du sarcome de Fujinami	<i>fps (fes)</i>
Virus du sarcome UR2	<i>ros</i>
Virus SKV770	<i>ski</i>
Virus félin	
Virus HZ4	<i>kit</i>
virus du sarcome mammaire	<i>fes</i>
Virus simien	
Virus du sarcome mammaire	<i>sis</i>

Les Papovavirus regroupent deux genres de virus : les papillomavirus et les polyomavirus. Les premiers sont à l'origine de tumeurs des épithéliums malpighiens, appelés papillomes (Campo, 2002). Les seconds ont un tropisme plus large et sont à l'origine de carcinomes, lymphomes, sarcomes...) et bénéficient d'une immaturité ou d'une incompétence immunitaire. Les mécanismes d'action sont variables en fonction du virus et de l'espèce cible.

Les Adénovirus sont rarement en cause dans les mécanismes d'apparition de tumeurs spontanées. En effet, les seuls adénovirus oncogènes connus ne le sont que dans un contexte expérimental. Aucun type tumoral spontané causé par ce type de virus n'a été mis en évidence chez l'homme ou l'animal.

Les Poxvirus sont à l'origine de tumeurs mésoenchymateuses (myxomatose, fibrome de Shope). Le pouvoir oncogénique de ces virus semble être apporté par une séquence nucléique homologue au proto-oncogène codant pour l'EGF (Epidermal Growth Factor) et dont le produit (Epidermal Growth Factor-like) possède la même activité. L'accumulation cytoplasmique de cette protéine dans les cellules infectées et l'activation mitotique qui en découle serait à l'origine de l'apparition des tumeurs (Chang *et al.*, 1990 ; Opgenhorf *et al.*, 1992).

2.4.3. Relation entre oncogènes viraux et oncogènes cellulaires

La forte homologie entre oncogène viraux et proto-oncogènes, ainsi que les mécanismes moléculaires de la cancérisation conduisent à penser qu'un oncogène viral est en réalité un oncogène cellulaire que le virus a capturé dans une cellule infectée et intégré dans son génome après quelques modifications biochimiques ponctuelles (mutations). Ainsi, l'oncogène cellulaire passe sous le contrôle des séquences stimulatrices du virus et après infection cellulaire, il est constamment exprimé et devient alors transformant (Jones *et al.*, 1997).

L'étude des oncogènes viraux (*v-onc*) (**Tableau II**) a ainsi permis de caractériser un grand nombre de leurs équivalents cellulaires normaux (*c-onc*).

Bon nombre d'oncogènes ont ainsi été caractérisés en médecine humaine et l'on connaît souvent leur mode d'activation ainsi que les cancers qui y sont associés. Tel n'est pas le cas en oncologie vétérinaire. En effet, si les oncogènes en cause sont probablement les mêmes qu'en cancérologie humaine, le mode d'activation de ceux-ci et les types tumoraux dans lesquels ils interviennent sont encore loin d'être complètement connus et caractérisés. Nous proposons ici une courte revue des connaissances vétérinaires acquises dans ce domaine.

3. LES ONCOGENES CELLULAIRES IMPLIQUES EN MEDECINE VETERINAIRE

3.1. Facteurs de croissance

Parmi les gènes codant pour des facteurs de croissance, la surexpression de l'oncogène *c-sis* a été en particulier mise en évidence dans l'ostéosarcome canin (Levine, 2002). Des lignées cellulaires d'ostéosarcome ont montré la surexpression simultanée de l'oncogène *c-sis* et de l'oncogène *c-myc* : par voie de transduction, la fixation du PDGF sur son récepteur induit la transcription de l'oncogène *c-myc*. Ainsi, l'activation de *c-sis* et la stimulation de la croissance cellulaire par message autocrine (fixation du PDGF sur un récepteur de la cellule qui l'a synthétisé) induit l'apparition de certains ostéosarcomes canins. Cependant, son pouvoir transformant dépend de la présence du récepteur correspondant à la surface des cellules.

3.2. Récepteurs au facteur de croissance

Le gène *Neu*, également appelé *erb-B2*, est un oncogène qui code pour un récepteur tyrosine kinase HER-2, récepteur pour le facteur de croissance épidermique (EGF). Ce gène est fréquemment muté lors de processus néoplasiques canins (Murura Escobar *et al.*, 2001). Une étude immunohistochimique a montré que la protéine Neu serait surexprimée dans 17,6% des carcinomes mammaires chez la chienne (Martin de Las Mulas *et al.*, 2003). Ces résultats sont voisins de ceux rapportés dans le cas du cancer du sein chez la femme. Dans les deux cas, il est rapporté une surexpression de *neu* sans amplification du gène. Les tumeurs bénignes ne montrent pas, quant à elles, de surexpression du gène (Ahern *et al.*, 1996).

Une autre étude portant sur 34 tumeurs de la gaine de nerfs périphériques ou PNST (Peripheral Nerve Sheath Tumor) de quatre espèces domestiques (chien, chat, cheval, bovin) a montré l'importance des mutations de *neu*. Ces 34 tumeurs ont initialement été classées en tumeurs bénignes (32) et malignes (2) sur des critères histopathologiques classiques. Les deux tumeurs malignes présentaient une mutation de l'oncogène *neu* (Stoica *et al.*, 2001). Ainsi, la recherche d'une mutation de l'oncogène *neu* dans ce type tumoral pourrait être un indicateur d'agressivité du fait que les tissus sains et les tumeurs bénignes n'expriment pas le gène.

Les autres oncogènes de la famille *erbB* (*erbB-1*, *erbB-3* et *erbB-4*) sont fréquemment exprimés dans les carcinomes mammaires canins (Matsuyama *et al.*, 2001).

Le proto-oncogène *c-yes* code pour une autre protéine à activité tyrosine kinase, appelée p60. Le gène canin a été séquencé (Zhao *et al.*, 1995) et il montre une forte homologie, en particulier pour la région codant pour le domaine tyrosine kinase, avec le gène humain (98,8% d'homologie). La répartition de la p60 dans différents tissus canins (Rungsipat *et al.*, 1999) est large. On la retrouve en particulier dans les cardiomyocytes, les cellules de Purkinje, les hépatocytes et les cellules épithéliales des tubes contournés proximaux et distaux, la corticosurrénale, la thyroïde et les glandes salivaires chez l'adulte mais aussi dans le cœur, le foie et le rein fœtaux.

Parallèlement, 185 tumeurs d'origine canine ont été testées (Rungsipat *et al.*, 1999). Les 59 tumeurs l'ayant exprimé sont pour 44% (12/27) des tumeurs cutanées, 21,4% (3/14) des tumeurs testiculaires et 29,1% (23/79) des tumeurs mammaires. Ainsi, l'expression de *c-yes* apparaît fréquente dans les tumeurs spontanées canines, y compris dans des types cellulaires ne l'exprimant pas à l'état physiologique. Cependant, le degré d'expression est variable selon le type tumoral.

Le mécanisme de l'activation a été recherché dans des carcinomes mammaires canins : 7 des 14 tumeurs ont montré une amplification du gène *c-yes*, quadruplant la quantité de protéines dans les tumeurs agressives.

L'oncogène *c-yes* est également incriminé dans les tumeurs lymphoïdes canines (Mina *et al.*, 1993). Il a été mis en évidence une amplification du proto-oncogène lors de leucémie lymphoïde.

3.3. Protéines impliquées dans la transduction du signal

La famille des oncogènes *ras* codent pour des protéines impliquées dans la transduction du signal. Chaque membre de cette famille est identifié par une lettre. Ainsi, on distingue *N-ras*, *K-ras* (ou *c-Ki-ras*) et *H-ras* (ou *c-Ha-ras*). Ces onco-protéines sont de loin les plus incriminées dans les processus tumoraux, néoplasiques ou non en cancérologie humaine. Le mode classique d'activation de cette famille d'oncogène est la mutation. La mutation intervient en des sites préférentiels du gène. Il s'agit des codons 12, 13 et 61 de l'exon 1 chez l'homme (Barbacid, 1990).

Merryman *et al.* (1999) ont montré une surexpression du proto-oncogène *ras* dans des cas d'hyperplasies et d'adénomes thyroïdiens chez des chats hyperthyroïdiens. Bien que le mode d'activation du proto-oncogène ne soit pas connu de façon certaine, le processus tumoral semble résulter d'une amplification.

Mayr *et al.* (2003) ont recherché la présence de mutations du gène *ras* sur divers types tumoraux canins et félins, et mis en évidence :

- (1) la présence d'une mutation sur *K-ras* lors d'adénocarcinomes pancréatiques dans 4 cas sur 5 pour l'espèce canine (les 4 sur le codon 12) et 2 cas sur 3 pour l'espèce féline (également sur le codon 12),
- (2) la présence d'une mutation sur *N-ras* pour un mélanome malin chez le chien,
- (3) l'absence de mutation sur les différents membres de la famille lors de tumeurs mammaires, hémopathies malignes et fibrosarcomes chez le chien,
- (4) l'absence de mutation sur les différents membres de la famille *ras* lors de lymphome canin, félin et bovin.

3.4. Facteurs de transcription

Bien qu'ayant un rôle incontestable en cancérologie humaine, l'implication de l'oncogène *c-myc* est peu rapportée en pathologie vétérinaire.

La protéine issue de l'expression de *c-myc* a été recherchée par une technique immunohistochimique dans diverses tumeurs mammaires (Inoue *et al.*, 1999): ostéosarcome, adénocarcinome, tumeurs myoépithéliales malignes ainsi que différentes tumeurs bénignes.

TABLEAU III : Principaux proto-oncogènes spontanément activés en cancérologie vétérinaire

Proto-oncogène	Mode d'activation	Tumeurs associées	Espèces	Références
<i>sis</i>	surexpression	ostéosarcome	chien	Levine, 2002
<i>erbB-2 (neu)</i>	surexpression mutation	carcinome mammaire schwannome	chien, chien, chat, cheval, bovin	Ahern <i>et al.</i> , 1996 Escobar <i>et al.</i> , 2001 Stoica <i>et al.</i> , 2001
<i>erbB-1,</i> <i>erbB-3,</i> <i>erbB-4</i>	surexpression	carcinome mammaire	chien	Matsuyama <i>et al.</i> , 2001
<i>yes</i>	surexpression amplification amplification	divers tumeurs carcinome mammaire leucémie lymphoïde	chien chien chien	Rungsipipat <i>et al.</i> , 1999
<i>ras</i>	surexpression mutation mutation	hyperplasie/adénome thyroïdien adénocarcinome pancréatique mélanome malin	chat chien, chat chien	Mayr <i>et al.</i> , 2003 Merryman <i>et al.</i> , 1999
<i>c-myc</i>	surexpression surexpression amplification	tumeur mammaire maligne rhabdomyosarcome ostéosarcome	chien, chien chien	Inoue <i>et al.</i> , 1999
<i>bcl-2</i>	surexpression - - -	carcinomes mammaires, adénome thyroïdien, lymphome, thymome	chat	Madewell <i>et al.</i> , 1999

Il a été observé un marquage intense de 100% des ostéosarcomes (5/5), 80% des adénocarcinomes (4/5), 100% des tumeurs myoépithéliales (3/3). Les tumeurs bénignes, quant à elles, montrent une réactivité plus hétérogène. L'absence d'immunoréactivité dans les tissus mammaires sains semble indiquer que l'expression de *c-myc* pourrait jouer un rôle dans l'apparition de tumeurs mammaires. Contrairement à ce qui est constaté lors de tumeur du sein chez la femme, aucune amplification du gène n'a été en revanche rapportée (Engstrom *et al.*, 1987).

L'expression de l'oncogène *c-myc* a été également examinée dans le rhabdomyosarcome canin. Ces tumeurs contiennent une grande quantité d'ARN codant pour la protéine Myc. Pourtant, son rôle dans ce type de tumeur est discuté car l'étude n'a pas montré de réarrangements dans le locus du gène (Engstrom *et al.*, 1987).

Enfin, une autre étude s'est penchée sur le rôle de *c-myc* dans les ostéosarcomes spontanés canins (Kochevar *et al.*, 1990) : un très faible niveau d'amplification de l'oncogène *c-myc* a été rapporté dans ce type de tumeur.

3.5. Inhibiteurs d'apoptose

La distribution topographique de la protéine Bcl-2 a été étudiée chez le chat dans des tissus sains et des tumeurs (Madewell *et al.*, 1999). Elle montre une forte similarité avec celle observée chez l'homme. Bcl-2 est exprimée de façon intense dans des cas de tumeurs de cellules basales (14/14), carcinomes mammaires (13/15), adénoïmes thyroïdiens (18/20), lymphomes (11/21) et thymomes (8/8).

Ainsi, les oncogènes incriminés en médecine humaine le sont également en cancérologie vétérinaire. Cependant, les mutations qui les altèrent sont moins bien connues et caractérisées. Outre ceux énumérés dans le tableau III, l'oncogène *c-kit* est impliqué dans certains processus néoplasiques du chien. Nous proposons, dans un premier temps, une description structurale et fonctionnelle du proto-oncogène, afin de mieux comprendre, dans un second temps, les dysfonctionnements liés à son altération.