

III - Oncogénèse et cycle biologique des virus

• Quelques définitions

-cancer: (Lat *cancer*, crabe)

Nom donné à toutes les tumeurs malignes qui s'étendent rapidement et ont tendance à se généraliser.

-Tumeur: (Lat *tumere*, enfler)

Nom générique donné à des productions pathologiques constituées par un tissu de nouvelle formation et distinctes de processus inflammatoires (tumeurs bénignes ou tumeurs malignes).

-Immortalisation:

Processus pathologique par lequel une cellule se divise de façon continue ou indéfinie.

-Transformation:

Processus pathologique par lequel une cellule acquiert de nouvelles propriétés modifiant sa morphologie et sa croissance.

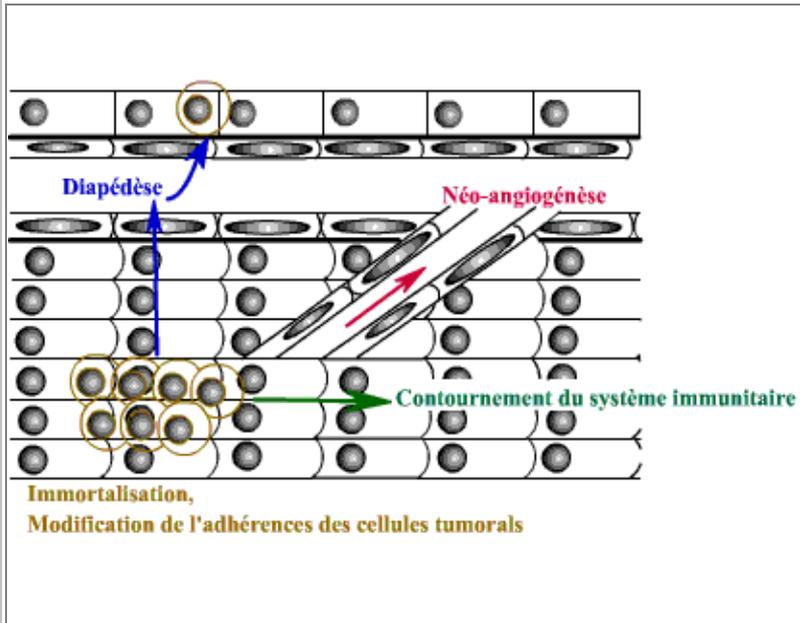
-Virus oncogène:

Virus introduisant la formation de tumeurs chez l'homme ou l'animal.

-Virus transformant:

Virus induisant une transformation des cellules infectées in vitro.

-Processus tumoral:

 <p>The diagram shows a cross-section of tissue layers. At the top, a layer of cells is shown with one cell circled in yellow and a blue arrow labeled 'Diapédèse' pointing to it. Below this, a layer of cells is shown with a red arrow labeled 'Néo-angiogénèse' pointing to a new blood vessel. At the bottom, a layer of cells is shown with a green arrow labeled 'Contournement du système immunitaire' pointing to a cell. At the very bottom, a layer of cells is shown with a yellow circle around a cell and a label 'Immortalisation, Modification de l'adhérences des cellules tumorales'.</p>	<p>Le processus tumoral peut se résumer en 4 facteurs:</p> <ul style="list-style-type: none">-Immortalisation des cellules et modifications de leurs adhérences-Contournement du système immunitaire-Néo-angiogénèse (formation de nouveaux vaisseaux sanguins alimentant les cellules tumorales)-Diapédèse (les cellules tumorales passent entre les cellules endothéliales et arrivent dans le système de régulation sanguin, ce qui leur permet de se disséminer ailleurs dans l'organisme.
--	---

- Comparaison cellule normale / cellules tumorales**

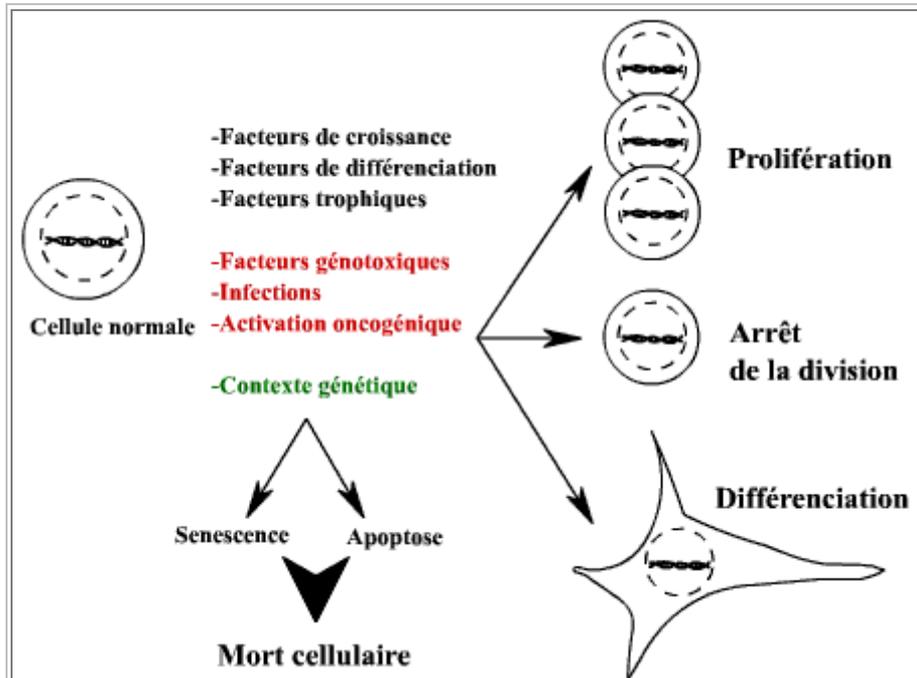


schéma du développement d'une cellule normale selon les différents facteurs.

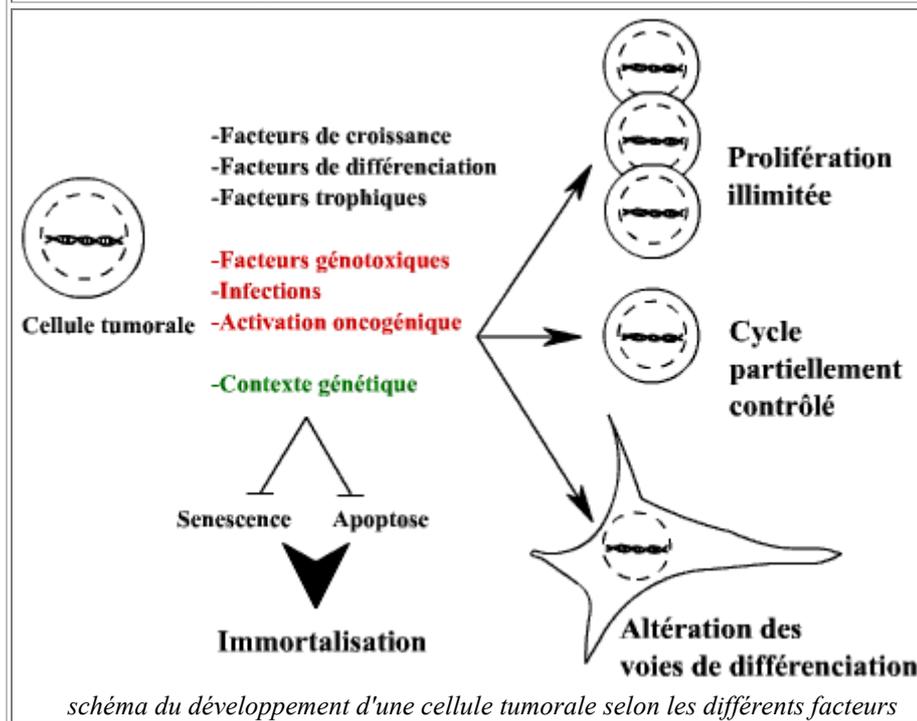


schéma du développement d'une cellule tumorale selon les différents facteurs

• Le processus d'immortalisation

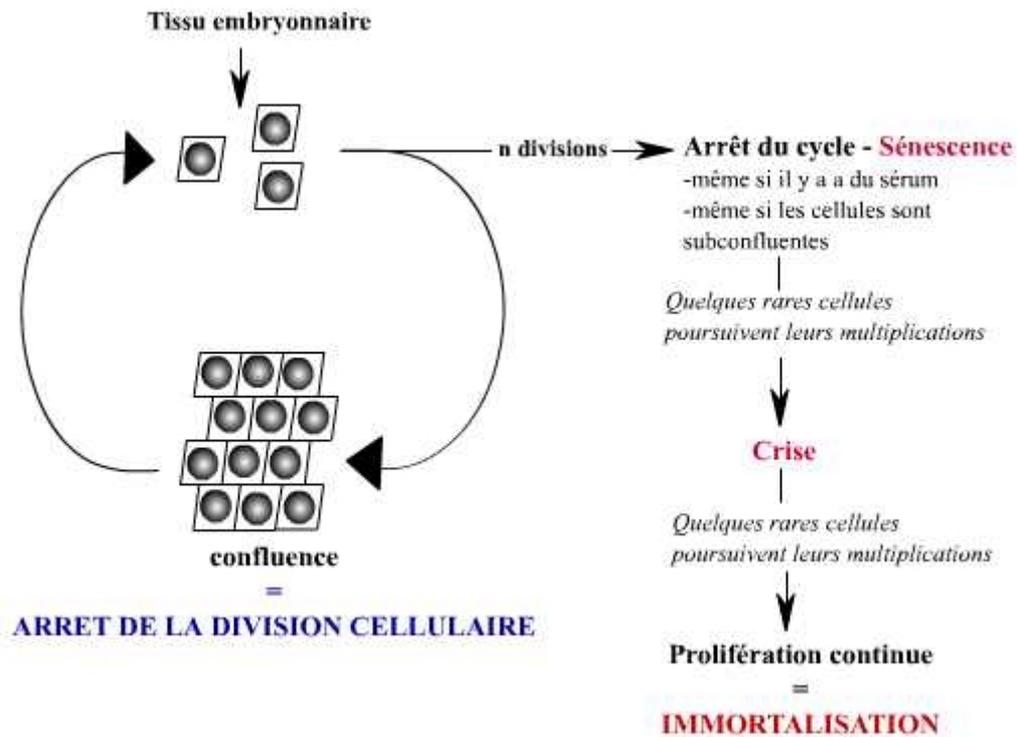


schéma du processus d'immortalisation chez des cellules de muérines.

• Le processus de transformation

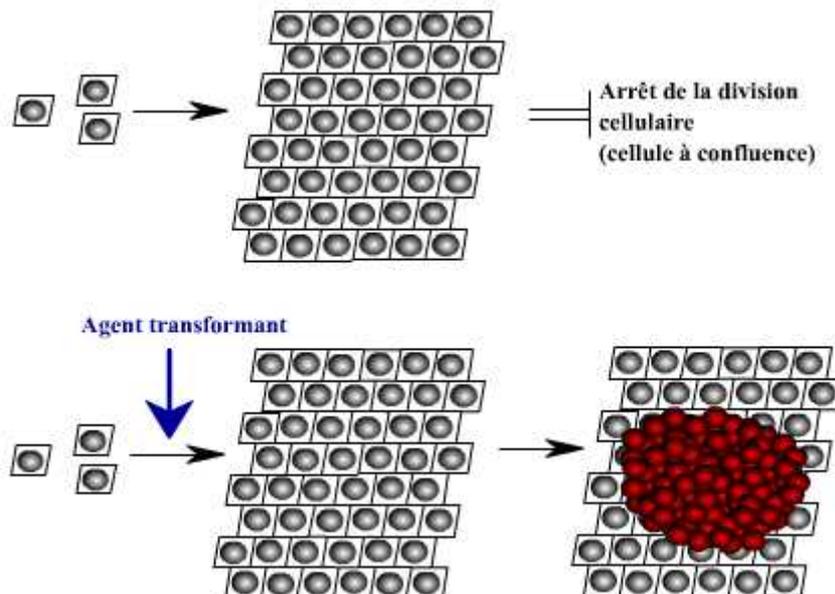


schéma du processus de transformation

• **Les propriétés des cellules transformées**

1. Au niveau de leurs croissances

- Augmentation de la densité cellulaire à saturation
- Diminution des besoins en facteurs de croissance
- Croissance "ancrage-indépendante"
- Perte de l'inhibition de contact

2. Au niveau du cytosquelette

- Perte des fibres de stress (visible en microscopie optique)
- Redistribution des microfilaments (microscopie électronique)

3. Au niveau de la surface des cellules

- Augmentation de l'agglutinabilité par les lectines
- Augmentation de la production de protéase membranaires et secrétés
- Mobilité accrue des protéines membranaires
- Diminution de l'adhérence aux supports solides

4. Au niveau de la matrice extracellulaire

- Diminution des fibronectines

N.B.:

.Les cellules transformées ne présentent pas nécessairement toutes les modifications décrites.

.Les tests de transformation peuvent recouvrir des notions différentes:

- croissance en agar molle
- croissance à taux de sérum réduits
- modification morphologiques etc....

.Il est important de distinguer les cellules transformées des cellules tumorigènes(tumeurs en souris nude(dépourvue de système immunitaire) ou dans un contexte isogénique)

.Les cellules tumorales sont en générales immortalisées et transformées.

• **Rôles des virus dans l'oncogénèse**

-84.5% des tumeurs sont dûs aux facteurs environnementaux (pollution, tabac...) et aux facteurs génétiques.

- 0.5% des tumeurs sont causés par des causes infectieuses autres que virales.

-15% des tumeurs sont le fait d'étiologie virale, dont 80% dû au seuls virus HPV et HBV..

Groupe taxonomique	Exemple	Mode d'infection, quand celle-ci est transformante	Pouvoir oncogène naturel
Virus à ARN			
<i>Rétrovirus</i>	ALV RSV HTLV-I	chronique chronique chronique	leucémie aviaire sarcome aviaire leucémie T de l'adulte
<i>Flavivirus</i>	VHC	chronique	hépatocarcinome
<i>Deltavirus</i>	VHD	chronique	discutable- en association avec VHB
Virus à ADN			
<i>Papovavirus</i>			
- papillomavirus	HPV 16/18	restrictive ou abortive	papillomes - carcinomes
- polyomavirus	SV40	abortive	non
<i>Adénovirus</i>	Ad12 humain	abortive	non
<i>Herpesvirus</i>	EBV HHV8 CMV	latente latente hit and run ?	lymphome / carcinome Kaposi / lymphome non prouvé
<i>Hepnavirus</i>	VHB	chronique	hépatocarcinomes
<i>Poxvirus</i>	Virus Fibrome Shope	Chronique ?	fibromes

- **-Les infections transformantes sont persistantes**
- Les voies physiologiques altérées le sont également dans les tumeurs non-induites.**
- Le processus néoplasique est toujours associé à une dis-régulation du cycle cellulaire.**

• Les Rétrovirus oncogènes

1. Propriétés communes des rétrovirus oncogènes

- Oncogènes chez l'homme ou chez l'animal
- Persistance sous forme intégrées
- Sont peu ou pas cytolytiques

2. Différences majeures entre les rétrovirus oncogènes

Délais d'apparition des tumeurs	Taux de tumorigénèse	Type de virus
rapide (~jours/semains)	élevé	RSV
Intermédiaire à long (~mois)	moyen	ALV
très long (années)	faible	HTLV-I

3. Les Virus oncogènes lents: exemple de l'ALV (*Avian Leukosis Virus*)

-Si l'on injecte à des poussins le virus ALV, au bout de 6 mois, 95% de ces poussins donneront des poulets sains et 5% des poulets leucémiques

Si l'on prélève du virus de ces derniers pour infecter de nouveau des poussins, ceci donneront 95% de poulets sains et 5% des poulets leucémiques.

Le virus issu d'un poulet leucémique n'acquiert donc aucun pouvoir oncogène.

-Le virus ALV n'est pas transformant (les cellules infectées n'acquièrent pas de nouvelles propriétés modifiant leurs morphologies ou leurs croissances).

-L'ADN proviral est intégré sans distinction à l'ADN des cellules tumorales et à l'ADN des cellules non tumorales.

-En analysant l'intégration de l'ADN proviral, on s'aperçoit:

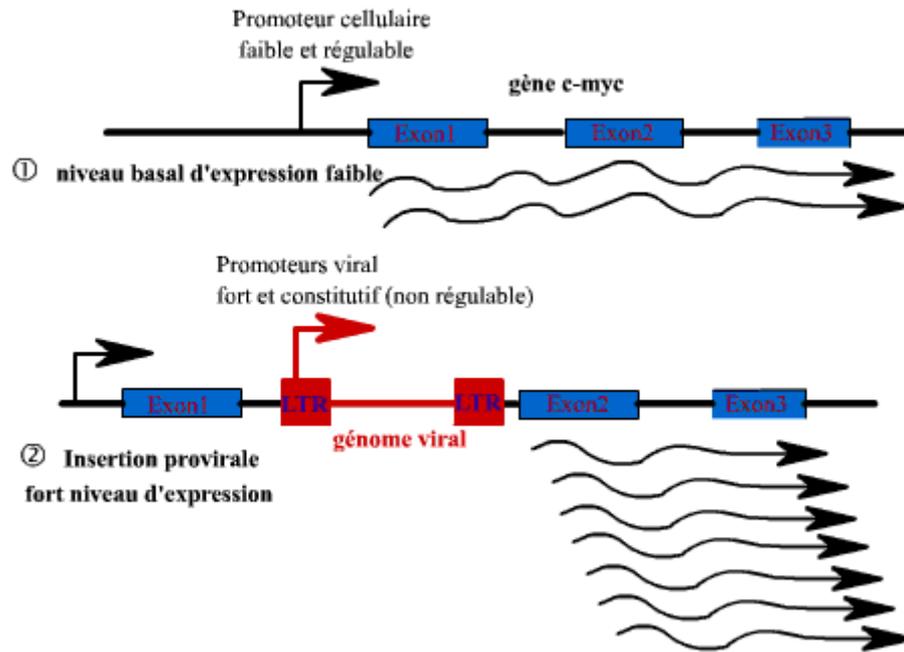
qu'il **s'intègre de façon aléatoire dans les cellules infectées mais non tumorales.**

qu'il **s'intègre de manière identique dans toutes les cellules tumorales : La tumeur est donc clonale** (issue d'une même cellule).

-En réalité, le site d'insertion du génome virale détermine le processus de transformation de la cellule infectée.

Si l'insertion s'effectue par exemple dans la zone de régulation du gène c-myc (proto-oncogène), il peut y avoir dérégulation de l'expression du proto-oncogène et

transformation de la cellule infectée.



➤ c'est un virus oncogène lent

Un virus oncogène lent est un virus **cis-activateur**, ce qui veut dire qu'il est capable d'activer l'expression de certain gène, mais uniquement si il est inséré à coté de ce gène.

Récapitulons: Caractéristiques des virus oncogène lents:

- Virus oncogène, mais non transformant
- Faible taux de tumorigénèse chez l'animal
- Les Tumeurs sont clonale
- Le site d'insertion du provirus est spécifique dans l'ADN cellulaire

Oncogénèse

- par mutation insertionnelle

-L' Oncogénèse est compatible avec la réplication virale

4. Les Virus oncogènes rapides: exemple du RSV (*Rous Sarcoma Virus*)

-Si l'on extrait par ultracentrifugation le virus RSV d'un poulet infecté et qu'on réinjecte le virus sur des poussins, 1 à 2 semaines plus tard, 100% des poussins ont développé un Sarcome.

Le virus est facteur d'oncogénèse

-En analysant l'effet du virus sur les cellules infectées, on s'aperçoit que le virus RSV est transformant.

-En analysant l'intégration de l'ADN proviral, on s'aperçoit: qu'il s'intègre que dans le génome des cellules tumorales . qu'il est présent dans toutes les cellules tumorales.

les sites d'insertion du provirus est aléatoire et
➤ ne détermine pas le pouvoir tumorigène ou transformant du virus.

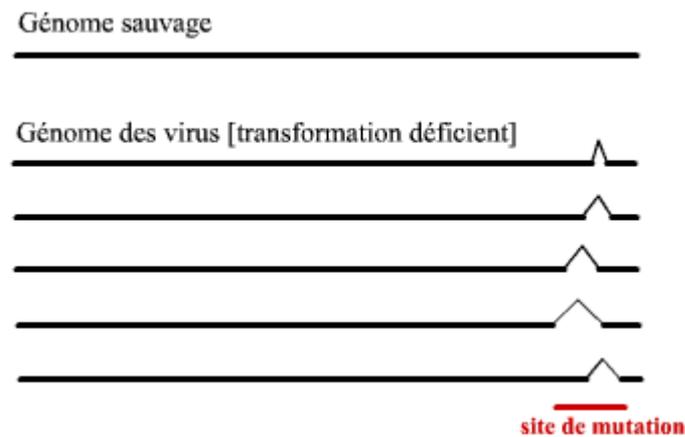
Pour déterminer si le pouvoir transformant du RSV est lié à un gène viral, **des mutants de RSV** sont étudiés:

Un stock viral est établi et on isole les mutants sur culture cellulaire:

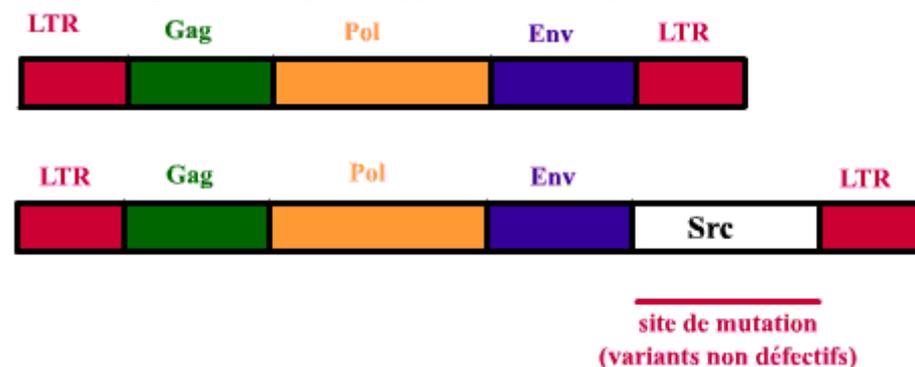
Le virus sauvage est transformant

Les mutants se répliquent mais sont déficients pour les fonctions de transformation.

Il faut ensuite localiser les sites mutés dans les virus déficients afin de déterminer le ou les gènes responsable des propriétés transformantes du virus.

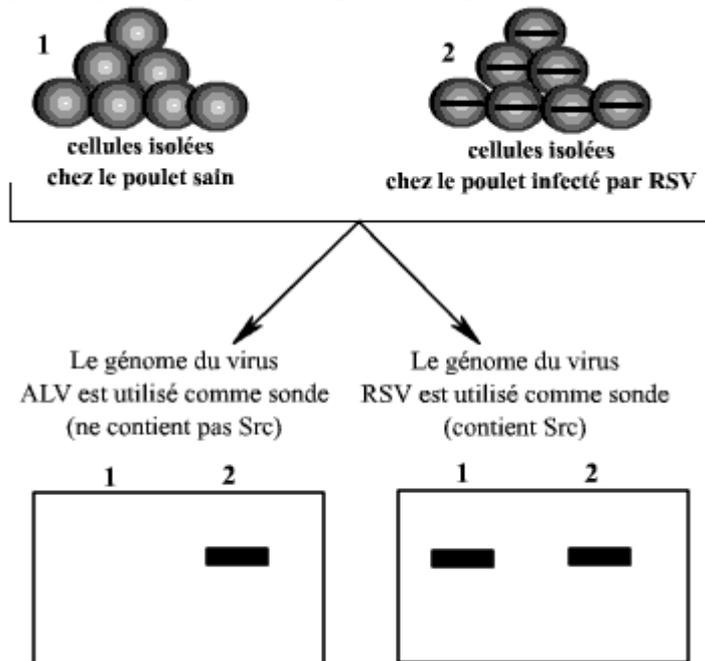


En analysant comparativement les génomes des virus RSV et ALV, on s'aperçoit que le virus RSV possède un gène supplémentaire baptisé **Src**.



En analysant ensuite la présence ou non du gène Src dans le génome des cellules non transformées, on s'aperçoit que le gène Src est présent dans les cellules saines, ce qui

signifie que ce gène est un gène d'origine cellulaire et non virale.



-Enfin, une dernière expérience a été menée:

Un mutant RSV "type ALV" (c'est à dire le gène v-Src délété) a été construit.

Le virus ainsi muté a été inoculé à des poussins:

Dans de rares cas, les poussins développent un sarcome, et ceci à un stade avancé de leurs croissances (comme si on les avait infecté avec ALV).

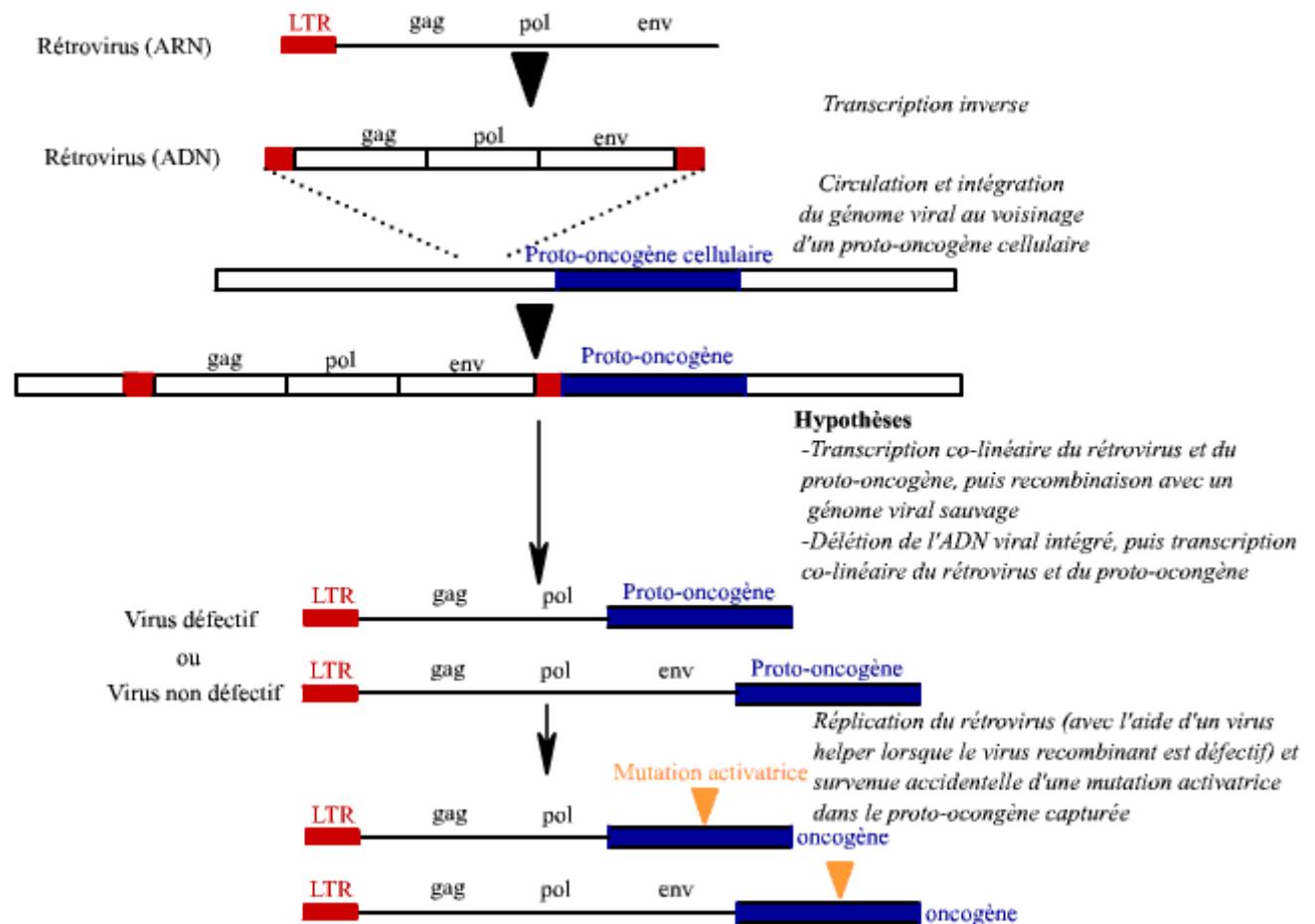
De ces rares poussins développant un sarcome l'on extrait le virus que l'on inocule de nouveau à des poussins:

Dans 100% des cas, le poussin présente un sarcome (comme si il avait été infecté par le virus RSV sauvage).

En analysant le génome des virus prélevés sur ces poussins, on s'aperçoit que le mutant RSV "type ALV" a acquis l'oncogène Src cellulaire.

**le virus RSV est capable de capturer un proto-
 ➤ oncogène cellulaire et c'est ce gène qui porte les
 fonction de transformation.**

Résumer:



n
 Fonctionnement du Virus RSV

Il est intéressant de noter que les virus à pouvoir oncogène rapide sont en général défectifs, d'où la nécessité soit d'un virus helper permettant au virus de se répliquer ou soit la mise en jeu d'un mécanisme de co-infection.

➤ les virus oncogènes rapides sont donc des virus transducteurs.

Récapitulons: Caractéristiques des virus oncogène rapides:

- Virus oncogène et transformant
- Courte période d'incubation avant apparition de la tumeur
- Taux élevé de tumorigénèse chez l'animal et de transformation in-vitro
- Tumeurs polyclonales
- Site d'insertion aléatoire du provirus dans l'ADN cellulaire
- Les fonctions de transformation sont portées par le virus et indépendantes des fonctions de réplication
- Les virus portent un oncogène d'origine cellulaire
- La capture d'un proto-oncogène cellulaire se fait le plus souvent au détriment des fonctions de réplication.

• **Les Virus oncogènes à ADN**

1. Le Virus SV40

-**Découverte:**

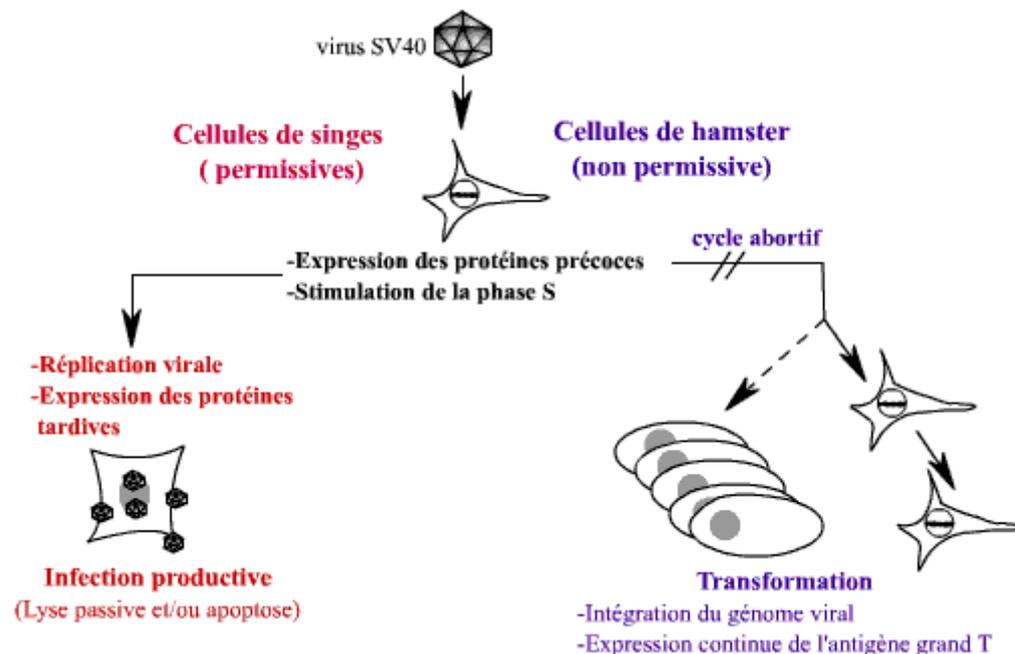
Le virus SV40 (*Virus Simien 40*) a été découvert par hasard lors des essais de vaccination contre la polio:

Salk et Sabin firent produire du virus de la polio sur des cellules de rein de singe. Ces virus étaient ensuite inactivés puis utilisés pour la vaccination. On faisait en parallèle des test d'innocuité.

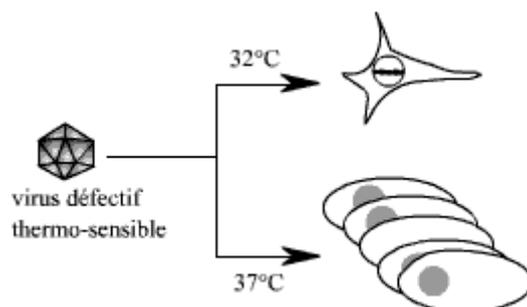
-En injectant la préparation à des hamster nouveau né, ils constatèrent l'apparition d'une tumeur 230 jours après injection.

En isolant les anticorps produits par le hamster, ils identifiaient un nouveau virus: le **SV40**.

-Ce virus est capable de se multiplier sur cellules de singe sans occasionner de tumeurs mais dès qu'il est injecté à des hamster, cesse de se multiplier mais induit des transformations en cellules tumorales.



Pour identifier les facteurs de la transformation, un mutant thermosensible de SV40 a été isolé:



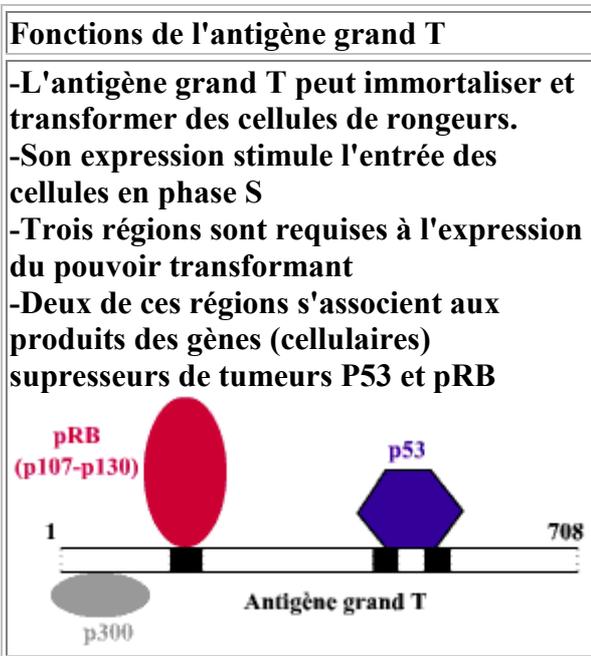
à 37°C, les cellules de hamster infectées par ce virus sont transformées, mais pas à 32°C (température où le virus est déficient) :

le facteurs transformant est donc un protéine virale : c'est l'antigène grand T.

-Le site d'insertion virale dans l'ADN génomique est aléatoire.

-Une région virale est constamment exprimée dans les cellules transformées, la région codant pour l'antigène grand T.

➤L'antigène grand T est suffisant pour immortaliser et transformer des cellules embryonnaires de rongeur



N.B.:

- l'inactivation de pRB est observée dans certaines formes de rétinoblastome.

-la p53 est inactive dans environ 50% des cancers humain.

2. Le papillomavirus

-Découverte des propriétés oncogènes du virus:

Shope transmet un échantillon du papillomavirus à F.P. Rous

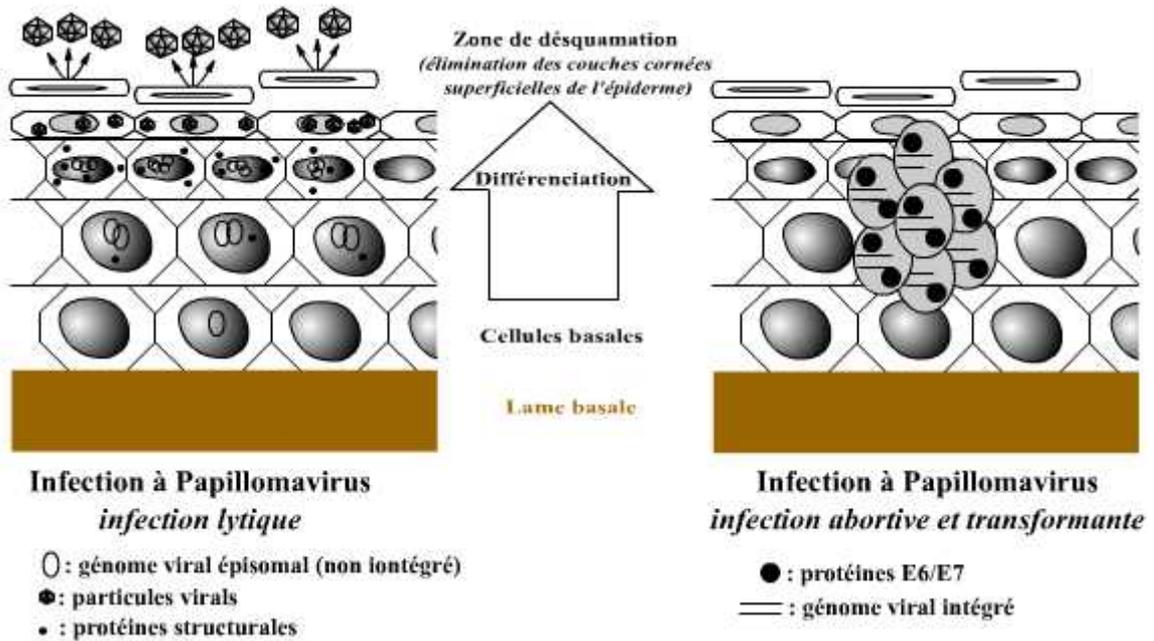
Injection de ce virus sur un lapin. Après quelques semaines, les lapins de laboratoire ne développent pas de verrue et le virus "disparaît".

Plusieurs mois après l'infection, les lapins développent un carcinome cutané....

En réalité, le virus présente 2 cycles possibles:

-Un cycle d'infection lytique

-Un autre d'infection abortive (pas de production de virus) et transformante.



-Les protéines virales E6 et E7 sont responsable du déclenchement de l'oncogénèse:

la protéine E6 interagit avec le produit de gène (cellulaire) supresseur de tumeurs P53.

la protéine E7 interagit avec le produit de gène (cellulaire) supresseur de tumeurs pRb.

➤ aller un (tout petit) plus loin sur le papillomavirus?:

<http://www.baclesse.fr/cours/fondamentale/7-carcino-virale/Virale-6.htm>

3. Les oncogènes viraux des "petits virus à ADN" sont ils un exemple de convergence évolutive

Virus	Interaction avec p53 cellulaire	Interaction avec pRb cellulaire
SV40	antigène T (EA)	antigène grand T
Virus Polyome Murin	Non Donné	antigène grand T
BK	antigène T (EA)	antigène grand T
JC	antigène T (EA)	antigène grand T
Adénovirus	E1b-55K/E4ORF6 (EA)	E1a (EA)
Papillomavirus 16/18	E6 (EA)	E7 (EA)
Virus Epstein-Barr (EBV)	EBNA-5 (EBNA-LP)	EBNA-5 (EBNA-LP)
Cytomégalovirus (CMV)	IE-84	non
Virus de l'Hépatite B (HBV)	HBx	non

Ces virus ont en commun de posséder une ou deux protéines précoces interagissant avec p53 et pRb.

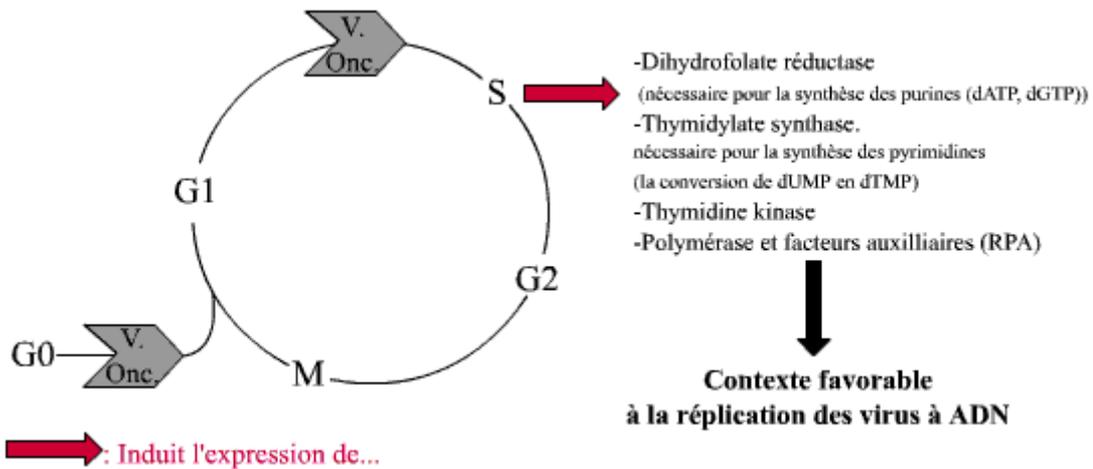
-L'interaction se fait dans les cellules transformées et au cours du cycle répliatif normal (*coïncidence?*)

-La transformation survient dans le contexte d'une infection abortive et persistante.

➤ Elle requiert l'intégration du génome viral et l'expression continue d'une ou plusieurs protéines précoces.

4. Cycle viral et transformation

La réplication virale dépend en grande partie du métabolisme nucléotidique de la cellule et, dans une mesure plus variable, de la machinerie de réplication.



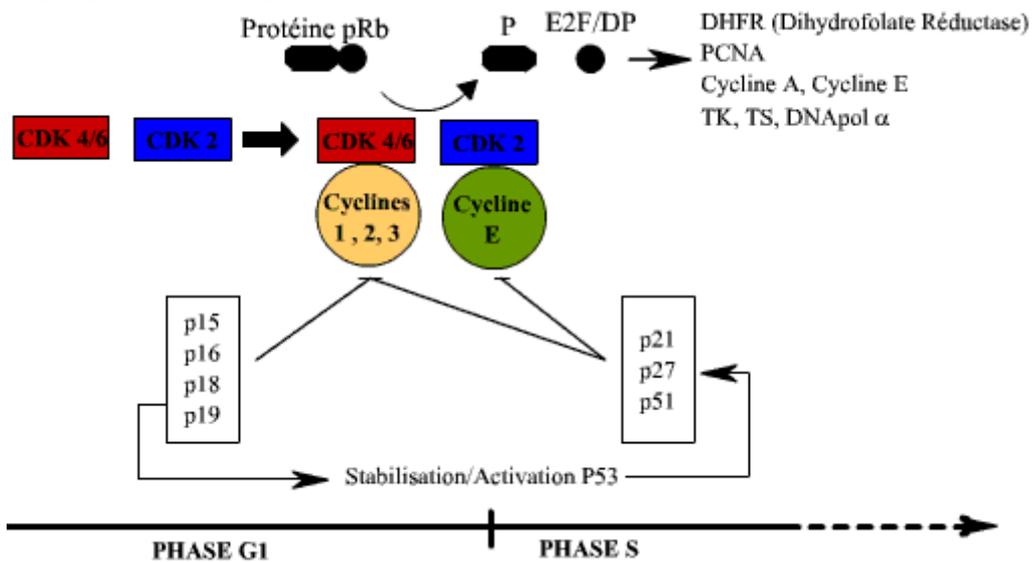
Comme on le voit sur le schéma, le virus oncogène amplifie l'avancée du cycle cellulaire vers les phases G1 et S, ce qui lui permet de se répliquer plus facilement, le métabolisme nucléotidique étant largement amplifié durant ces phases.

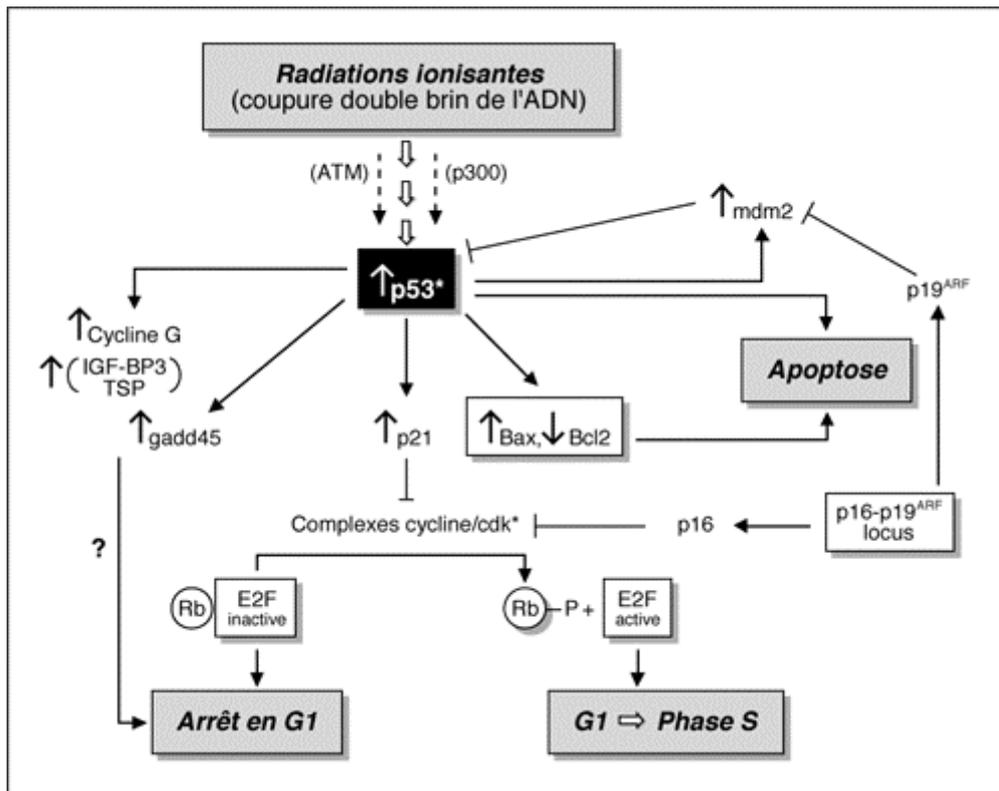
En tant normal, le cycle cellulaire est régulé.

-En phase G1:

La protéine Rb forme avec E2F le complexe Rb-E2F qui réprime l'expression des gènes du cycle cellulaire et ceci constitue un événement essentiel pour supprimer la prolifération cellulaire.

La liaison à Rb ou sa phosphorylation, fonctionnellement ou physiquement, libère les facteurs de transcription E2F. E2F est lié à l'ADN en association avec un autre facteur de transcription DP-1 et ensemble, une fois l'action inhibitrice des protéines "pocket" levée, elles induisent l'expression de la cycline E et cycline A, nécessaire pour le passage à travers G1. Mais surtout, les facteurs de la famille "pocket" régulent la transcription des gènes impliqués dans la réplication de l'ADN et dans l'induction de l'expression des histones 2A et 2B, indispensables pour l'assemblage de l'ADN dans les nucléosomes. Ils sont donc essentiels pour l'initiation et progression de la phase S.





Représentation schématisée de quelques facteurs cellulaires impliqués dans la réponse cellulaire **dépendante de p53 à des dommages causés à l'ADN**. L'irradiation ionisante des cellules provoque des cassures de chaînes d'ADN qui conduisent à une augmentation post-traductionnelle du taux de p53 et à son activation (l'astérisque indique l'état activé de p53). La protéine p300 interagit avec p53 et cause son acétylation, contribuant à son activation. L'induction optimale de p53 après irradiation paraît nécessiter un gène ATM normal. L'accumulation et l'activation de p53 conduisent à une transactivation transcriptionnelle de plusieurs gènes comprenant gadd45, mdm2, p21, bax et cycline G. La question n'est pas encore résolue de savoir si les gènes inducibles par p53, IGF-BP3 et TSP1 (thrombospondine-1, inhibiteur d'angiogénèse), sont induits spécifiquement en réponse aux radiations ionisantes. Une augmentation du taux de p21 contribue à l'arrêt du cycle cellulaire par l'inactivation des complexes cycline-Cdk (l'astérisque après cycline-Cdk indique l'état d'activation de ceux-ci). p53 stimule l'expression de mdm2, entraînant une régulation négative de p53, ce qui limite la durée de l'arrêt en G1 provoqué par l'irradiation des cellules.

Dans une cellule avec des gènes RB1 intacts, l'induction de p53 tend à empêcher la phosphorylation de pRb, qui reste ainsi lié au facteur de transcription E2F. Les cellules qui sont en G1 à ce temps de l'irradiation ne peuvent progresser en phase S car les gènes permettant cette progression sont bloqués.

Au contraire, si pRb est inactivée, soit par fixation avec des oncoprotéines virales (E1a, E7), soit par inactivation du gène RB1, alors E2F est constitutivement libre et capable de faire passer la cellule en phase S1 malgré l'induction de p53.

La combinaison de l'induction de p53 et l'expression de E2F ou la progression continue en phase S tendent à induire l'apoptose.

Les voies de régulation p19ARF-MDM2-p53 et p16-cycline D/CDK4,6-pRb sont indiquées.

➤ cf rappel sur le cycle cellulaire : <http://www.multimania.com/ikramer>

5. Pour pouvoir permettre une oncogénèse, les oncogènes viraux doivent "collaborer"

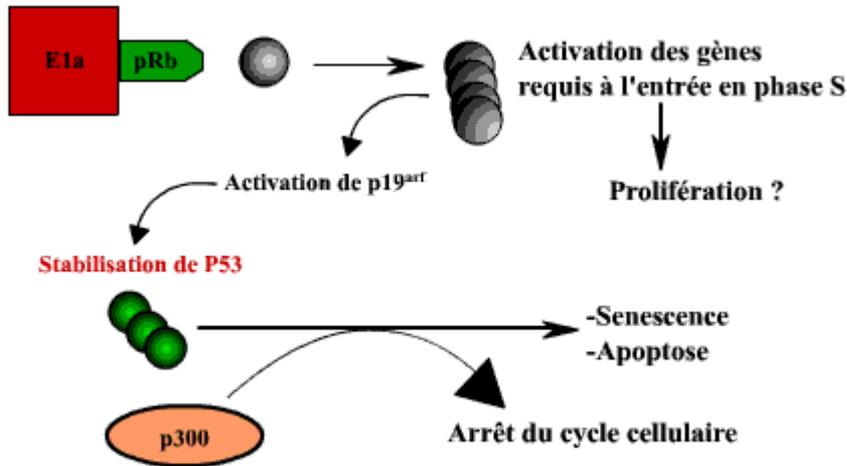


schéma de régulation du cycle dans une cellule non-infectées.

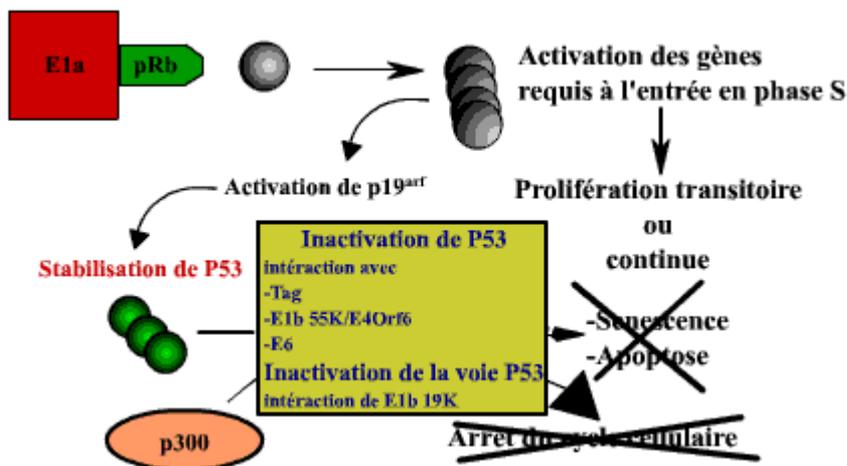


schéma de régulation du cycle dans une cellule infectées par un virus oncogène inactivant P53 ou/et bloquant sa voie de régulation.

6. Le modèle des "petits virus oncogènes à ADN"

-La transformation viro-induite (par SV 40, Adénovirus, Papillomavirus) est une perversion du cycle réplcatif, mais elle en traduit certaines modalités.

-Les interactions observées traduisent une "mise en condition" de la cellule (permettant d'optimiser les processus de réplcation virale).

➤ Les protéines impliquées sont très **précoces** ou **précoces**

La transformation étant incompatible avec les propriétés cytolytiques de ces virus, elle n'est observée qu'au cours d'infection **persistantes** et **abortives**.

➤ Il y a alors intégration du génome viral et expression constante des oncoprotéines virales

Peut-on étendre ce modèle aux virus de grande capacité codante ?

7. Prophylaxie et approche thérapeutiques

