



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
Faculté des Sciences et Techniques



ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Le cancer colorectal

Le cancer colorectal représente un problème majeur de santé publique. C'est le cancer le plus fréquent en France, et il représente près de 15% de l'ensemble des cancers. On estime à 33 500 le nombre de nouveaux cas de cancer colorectal par an, dont 22 000 cas environ de cancers du colon (Réseau FRANCIM). L'incidence augmente régulièrement mais de façon modérée (3 à 5% par an). Il existe une prédominance masculine, mais qui est cependant moins marquée que pour le cancer du rectum. La fréquence augmente régulièrement avec l'âge ; l'âge moyen au moment du diagnostic étant de 70 ans environ. Le majeur des cancers du colon se développent à partir d'un polype adénomateux. La survie relative (décès dus au cancer) des patients atteints de cancers colorectaux est de 53% à 5 ans, tous stades confondus. Pendant les deux dernières décennies, le pronostic des cancers colorectaux s'est amélioré en raison du diagnostic plus précoce et de la réduction de la mortalité opératoire. D'importants progrès ont été réalisés ces dernières années, dans des domaines aussi variés que la génétique moléculaire, le dépistage, la prise en charge médicochirurgicale et la chimiothérapie.

I-Epidémiologie du cancer du colon :

Le cancer du colon se développe à partir de la muqueuse du (gros intestin) ou colon. Dans 70% des cas, la tumeur se développe dans le sigmoïde (boucle située dans la fosse iliaque gauche). Les cancers du colon et du rectum étant assez semblables, on les regroupe sous le terme de cancer colorectal.

C'est le second cancer, en termes de fréquence, chez la femme (après le cancer du sein) et le troisième chez l'homme (après le cancer du poumon et celui de la prostate). (Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer, 2009).

Le cancer colorectal est le quatrième cancer dans le monde. Les cancers de l'intestin (côlon et rectum) sont la troisième cause de mortalité au Maroc derrière les cancers du sein et du poumon. C'est ce qu'a expliqué le 9 octobre à Casablanca, Dr Mounir Bachouchi, cancérologue au Centre d'oncologie Al-Azhar de Rabat et membre de la Société Marocaine de Cancérologie. Au Maroc l'incidence est mal connue vu l'absence d'un registre national, cependant il y a des registres régionaux dont on citera le registre des cancers de Rabat, registre de cancer du Casablanca.

D'après le registre des cancers de Rabat pour l'année 2005, le cancer du colon à Rabat est relativement peu fréquent. Son incidence est proche des incidences retrouvées par les autres registres de cancer au Maghreb (excepté en Lybie) et reste très inférieure aux incidences observées dans les pays occidentaux, au Japon ou en Chine (Registre des cancers de Rabat, 2005)

Alors que dans la région du grand Casablanca, l'incidence du cancer colorectal est de 5,3 nouveaux cas/100000 habitants, à savoir 192 cas enregistrés en 2004. La moyenne d'âge étant de 56 ans avec des cas extrêmes de 17-83 ans. La répartition par sexe du cancer colorectal est de 51% femmes et 49% hommes. (Registre des cancers de la région du grand Casablanca, 2007).

En France, il est au premier rang des cancers pour les deux sexes, avec 33 500 nouveaux cas par an (16)

L'incidence la plus faible (<10 pour 10 000 habitants) est observée dans les pays en voie de développement d'Asie et d'Afrique. L'incidence la plus élevée est observée en Amérique du Nord, en Australie et en Nouvelle-Zélande (30-50 pour 10 000 habitants).

L'incidence du cancer du colon au sein des populations qui émigrent d'un pays à faible incidence vers un pays à forte incidence rejoint celle du pays d'accueil en une génération, ce qui témoigne de l'intervention de facteurs d'environnement. La probabilité d'être atteint d'un cancer colorectal au cours de la vie est de 5% [2].

Le cancer colique est rare avant 50 ans (6% des cas). L'incidence augmente ensuite rapidement avec l'âge. La proportion de cas diagnostiqués double chaque décennie entre 40 et 70 ans dans les deux sexes. L'âge moyen au diagnostic est de 69 ans chez l'homme et 72ans chez la femme.

L'augmentation de l'incidence du cancer colique pourrait être liée au vieillissement de la population. [3]

II-Facteurs de risque :

Tous les cancers sont causés par des mutations de gènes qui contrôlent des aspects de la biologie cellulaire comme la multiplication et la différenciation cellulaires.

Les tests moléculaires en cancérologie, consistent à analyser les gènes de la personne atteinte, qui prédisent partiellement le futur de celle-ci, et les gènes de la tumeur, qui prédisent partiellement le futur de la tumeur.

Le cancer est l'émergence d'un clone cellulaire qui prolifère, envahit, et métastase malgré les différents niveaux de contrôle de l'organisme. Ceci n'est possible que par l'accumulation de nombreuses anomalies génétiques. [100]

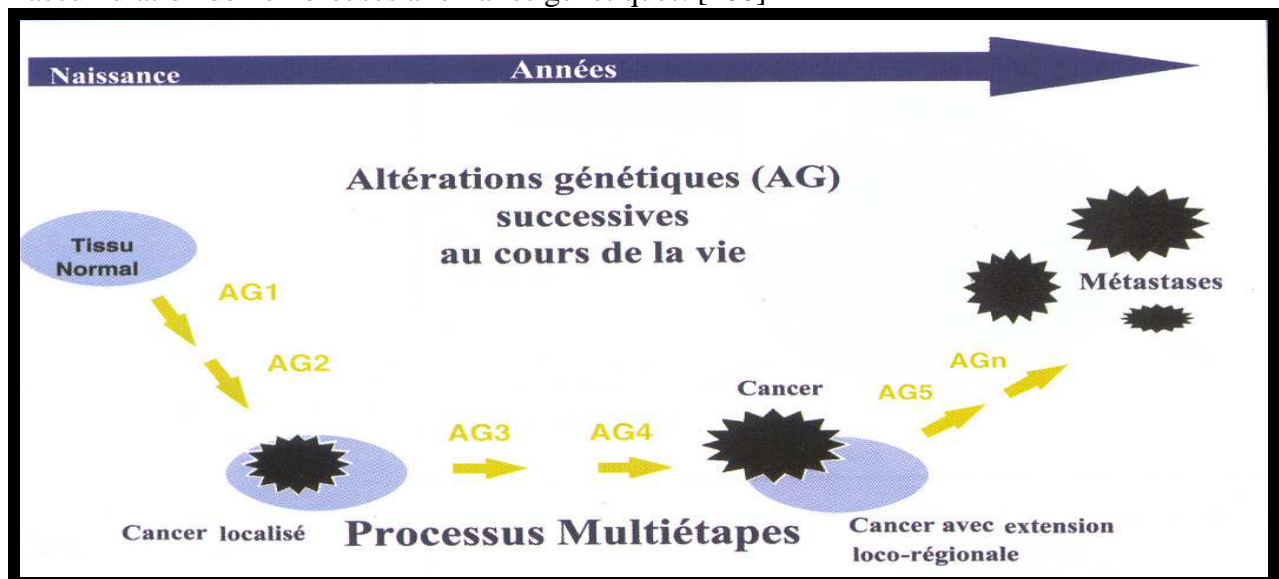


Figure 1 : le processus multiétapes du cancer

Plusieurs gènes présentent une expression altérée dans les cellules tumorales. [101]. Les altérations peuvent être :

- des mutations.

- Des translocations.
- Divers réarrangements chromosomiques.
- Des délétions.
- Des amplifications géniques.
- Des pertes ou gains de chromosomes entiers.
- Des mécanismes épigénétiques (Méthylation de l'ADN).

- Les cellules cancéreuses :

Les cellules cancéreuses résultent de plusieurs altérations géniques successives. Les caractéristiques des cellules cancéreuses sont essentiellement :

- Capacité de croissance.
- Insensibilité aux inhibiteurs physiologiques de la croissance cellulaires.
- Echappement à l'apoptose.
- Capacité de se diviser de façon illimitée.
- Capacité d'induire une néo-angiogenèse.
- Capacité d'invasion et de métastases.
- Modifications cytologiques.

Les facteurs de risques impliqués dans le cancer colorectal sont :

1) Facteurs d'environnement :

Les différents facteurs de risque impliqués dans la cancérogenèse colorectale figurent dans le tableau ci-dessous [4]:

Tableau 1: Facteurs de risque impliqués dans la cancérogenèse colorectale [4]	
Facteurs associés à une augmentation de risque de tumeur colorectale	Facteurs associés à une diminution du risque de tumeur colorectale
Excès calorique, obésité, sédentarité	Légumes, en particulier crucifères (choux, navets, brocolis)
Repas fréquent, grignotage	Fibres (surtout les fibres des légumes et les son de blé ¹)
Viandes grasses : charcuterie, mouton, abats	Calcium et produits laitiers fermentés
Céréales raffinées	Vitamines antioxydantes
Fer	Folates
Alcool et tabac	Café

1 : l'effet protecteur des fibres semble s'exercer sur la transformation de l'adénome en cancer.

1.1 Facteurs associés à une augmentation de risque de tumeur colorectale :

a) Calories, obésité, sédentarité :

Un apport calorique élevé, une obésité de type androïde ainsi que la sédentarité sont associés à un risque augmenté d'adénome ou de cancer colique [5].

b) Hydrates de carbone :

Plusieurs études ont retrouvé une association positive avec une relation dose-effet, entre la consommation de sucres et le risque de cancer colorectal [6].

c) Graisses, viandes et protéines :

La majorité des études ne retrouvent aucun lien significatif entre consommation de lipides saturés et risque de cancer colorectal [7, 8, 9]. Les lipides polyinsaturés pourraient même avoir un rôle protecteur. La consommation de protéines apparaît liée à une augmentation du risque de cancer colorectal. Les données concernant la consommation de viande sont discordantes, le risque étant plutôt lié à une consommation excessive de viande rouge (>133g/jour) [8, 9]. Ce rôle a été constaté en Amérique du Nord et en Australie, où la teneur en graisse de la viande est beaucoup plus élevée qu'en Europe de l'Ouest. La charcuterie, riche en graisse et conservée à l'aide de nitrites dont les dérivés sont mutagènes, possède un rôle potentiellement néfaste [8]. La cuisson des protéines est source d'amines hétérocycliques carcinogènes.

d) Alcool et tabac :

La consommation d'alcool est associée à un risque relatif de 1,2 de cancer colorectal dès 40g/jour [10]. La bière est la boisson qui augmente le plus ce risque. L'alcool interviendrait sur l'étape précoce de promotion du cancer qu'est la croissance de l'adénome.

1.2 Facteurs associés à une diminution du risque de tumeur colorectale :

A) Fibres alimentaires et végétaux :

Le rôle protecteur des fibres alimentaires a été soupçonné devant les différences géographiques. Le risque relatif est proche de 0,5 pour les sujets consommant plus de 27g de fibres par jour [11]. Cet effet prédomine chez les gros consommateurs de graisse, et ne concernerait que certains types de fibres. Le rôle protecteur de la consommation de légumes serait lié à leur teneur en vitamines et composants oxydants comme les indoles, en fibres alimentaires, en phytates. Les agrumes, les pommes, les melons, les crucifères (choux, brocolis), les légumes verts consommés crus et les oignons sont les plus fréquemment cités.

B) Calcium, sélénium et vitamines :

Le calcium et la vitamine D possèdent un effet protecteur modéré sur le risque de cancer colorectal, noté principalement en cas d'apport préalable faible [12]. Quelques études ont suggéré un rôle protecteur des vitamines A, C, E, du β -carotène et des minéraux (sélénium) à effet antioxydant vis-à-vis du cancer colorectal.

2) Facteurs héréditaires :

Dans environ 5 % des cas, le cancer colique survient dans un contexte de maladies héréditaires prédisposant au cancer colique, à transmission autosomique dominante et à pénétrance élevée. Un âge inférieur à 50 ans lors du diagnostic, des antécédents tumoraux personnels, une agrégation familiale de cancers, doivent faire évoquer une prédisposition familiale et reconstituer l'arbre généalogique du sujet. La polypose adénomateuse familiale et le syndrome de Lynch ou HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer) sont les deux maladies associées aux gènes majeurs de susceptibilité du cancer colorectal actuellement identifiés [13].

-Polypose adénomateuse familiale : c'est la maladie pré cancéreuse à partir de laquelle se développe le cancer.

-le syndrome de Lynch ou HNPCC : survient vers 40 à 50 ans, atteint plus souvent le colon droit, et est souvent de type mucineux, peu différencié, avec une réaction stromale très inflammatoire

-En dehors des colites inflammatoires, il s'agit des sujets aux antécédents personnels et familiaux d'adénome et d'adénocarcinome colorectaux.

III. Rappel anatomique :

Le colon, aussi appelé " gros intestin", court du caecum jusqu'au rectum et constitue la partie terminale de l'intestin, appartenant à l'appareil digestif, se terminant au niveau du rectum. Il se dispose en cadre dans la cavité abdominale et mesure de 1m à 1,5m avec un diamètre de 8 cm (caecum) à 4 cm (rectum)[14]. La paroi du colon comprend de la lumière du tube à l'extérieur, un épithélium de revêtement vascularisé et innervé, un tissu conjonctif contenant des glandes exocrines, des fibres musculaires lisses et une mince couche conjonctive dans la quelle circulent les vaisseaux et les nerfs.

La division du cadre colique se fait en deux portions définies par leur vascularisation. Le côlon droit (cæcum, côlon ascendant, angle colique droit et deux tiers droits du côlon transverse) dépend des vaisseaux mésentériques supérieurs, et le côlon gauche (tiers gauche du côlon transverse, angle colique gauche, côlons descendant, iliaque et sigmoïde) dépend des vaisseaux mésentériques inférieurs.

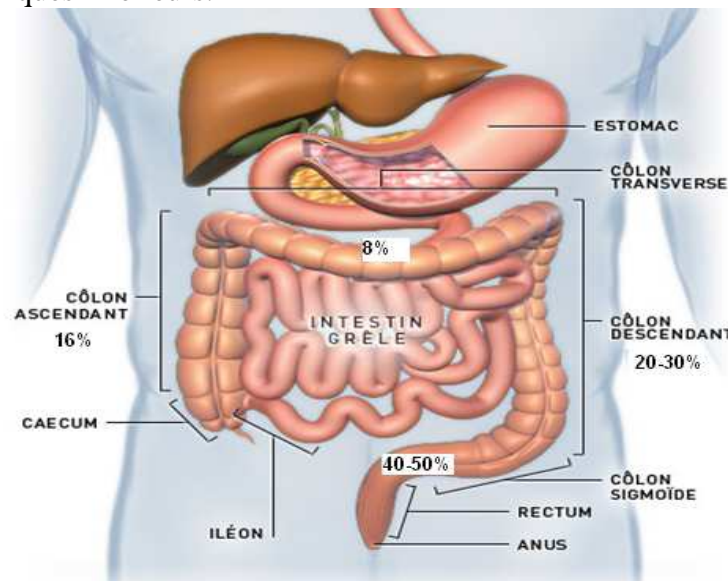


Figure 2 : l'anatomie du colon

VI. Types de tumeurs colorectales :

Le colon et le rectum contiennent différents types de cellules qui peuvent, chacun, être à l'origine d'une forme de cancer spécifique. [15]

Dans la plupart des cas, les cancers colorectaux se développent à partir des glandes qui tapissent l'intérieur de la paroi du colon et du rectum. Cette forme de cancer est appelée adénocarcinome. L'adénocarcinome survient sur un polype préexistant (adénome).

1-De l'adénome vers le cancer :

a) L'adénome :

C'est une tumeur épithéliale bénigne dysplasique. Le risque de transformation cancéreuse de l'adénome augmente avec sa taille: 0,5 % si inférieure à 1 cm; 5 % entre 1 et 2cm; 30% si supérieure à 2cm. 25 à 30% des adénomes se transforment en cancer.

b) Le cancer in situ :

Lorsque la prolifération cellulaire dépasse la membrane basale et envahit la muqueuse, le cancer est dit in situ (par opposition aux autres épithéliums dans l'organisme humain), car il n'y a pas de lymphatiques dans la muqueuse donc pas de risque métastatique.

c) Le cancer invasif :

Lorsque les cellules tumorales dépassent la muqueuse musculaire et envahissent la sous-muqueuse (présence de canaux lymphatiques), le cancer est dit invasif.

2-Histoire naturelle du cancer invasif :

• Evolution morphologique intraluminale :

Le cancer est d'abord de type végétant puis en grossissant et du fait des traumatismes répétés, il perd sa partie centrale et devient ulcéré, enfin, il progresse en profondeur et devient infiltrant.

• L'extension tumorale locale :

a) Extension circonférentielle:

Par épithéliotropisme (en surface) et par voie lymphatique, à cheminement circulaire, le cancer s'étend circonférentiellement pour réaliser à l'extrême une forme sténosante dont la complication clinique est l'occlusion.

b) Extension en profondeur:

Depuis la surface épithéliale, le cancer infiltre progressivement la paroi digestive puis la séreuse (sauf au niveau du rectum où il n'y en a pas), puis l'atmosphère péricolique ou périrectale et les organes adjacents. Cette extension suit la direction d'un rayon (le centre de la roue étant le centre de la lumière digestive), elle est dite extension radiaire.

c) Extension longitudinale:

Dans la paroi digestive, l'extension microscopique déborde rarement de plus de 1cm la tumeur macroscopique en amont et en aval à l'extérieur de la paroi digestive, en particulier dans la graisse péri-rectale, elle peut dépasser 2cm en aval et plus surtout en cas de cancer peu différencié.

d) Extension extradigestive

Peut être continue ou discontinue de façon embolique dans la graisse péri-digestive, en empruntant les lymphatiques, les veines ou les espaces périnerveux.

• **L'extension ganglionnaire :**

Elle est ordonnée. Dans moins de 3% des cas, les cellules sautent un relais ganglionnaire. Le Risque d'extension ganglionnaire augmente avec le degré d'infiltration tumorale en Profondeur.

• **L'extension à distance ou métastatique :**

- péritonéale: les tumeurs coliques ou rectales suspéritonéales peuvent métastaser au Péritoine lorsqu'elles ont franchi la séreuse péritonéale, soit de façon contiguë, soit de Façon discontiguë, à distance dans la grande cavité abdominale.
- hépatique: les cellules tumorales empruntent les veines de drainage qui pour l'essentiel drainent dans la veine porte. Elles peuvent s'arrêter, se développer dans le foie et donner des métastases.
- pulmonaire: les cellules y arrivent en empruntant les veines iliaques puis la veine cave inférieure, cas du bas rectum, ou après avoir franchi le filtre hépatique. [16]

D'autres types de tumeurs cancéreuses peuvent survenir mais elles sont beaucoup plus rares : tumeurs carcinoïdes (se développant à partir de cellules nerveuses digestives, qui sécrètent des hormones ou des neurotransmetteurs), sarcomes (regroupant différents types de tumeurs qui se développent à partir des os ou des tissus mous qui relient, soutiennent et entourent tous les organes du corps), lymphomes (se développant dans les organes lymphoïdes et notamment dans les ganglions lymphatiques).

Enfin, le colon et le rectum peuvent être envahis par des métastases issues de cancers situés dans l'ovaire, la prostate, l'estomac ou le sein.

V. Classification des cancers coliques :

• **Classification de Dukes :**

Proposée par Dukes en 1932 pour les cancers du rectum [17], elle différencie les tumeurs limitées à la paroi (stade A), étendues au-delà mais sans envahissement ganglionnaire (stade B) ou avec envahissement ganglionnaire quel que soit l'envahissement pariétal (stade C). Cependant, le stade B est hétérogène dans le degré d'extension péricolique, et le stade C ne tient compte ni du nombre ni du siège des ganglions envahis.

• **Classification d'Astler-Coller :**

Proposée en 1954, elle différencie les cancers limités à la muqueuse (stade A), s'étendant à la musculature mais limités à la paroi, sans (stade B1) ou avec extension ganglionnaire lymphatique (stade C1), et les cancers atteignant le tissu péricolique, sans (stade B2) ou avec extension ganglionnaire (stade C2) [18]. Cette classification permet de mieux séparer les cas relevant ou non d'un traitement adjuvant.

- **Classification de Gunderson et Sosin :**

Elle différencie les tumeurs étendues aux structures de voisinage par extension directe, sans (stade B3) ou avec (stade C3) extension ganglionnaire, dont l'exérèse à visée curative est possible dans le même geste chirurgical, des stades D métastatiques.

- **Classification TNM et en stades :**

La classification internationale TNM (tumeur maligne [T], atteinte de ganglions [N : nodes], et présence de métastases [M]) de l'UICC est la meilleure classification histopronostique, car elle distingue de façon indépendante cinq stades d'envahissement pariétal et trois stades d'extension ganglionnaire [19] (tableau 2). En fonction de l'envahissement locorégional, de l'extension ganglionnaire et de la présence de métastases est attribué un stade TNM. Les équivalences entre les différentes classifications sont mentionnées dans le (tableau 3).

Tableau 2 : Classification TNM de l'Union internationale contre le cancer pour le cancer du côlon (cinquième édition). [19]

Tumeur primitive (T)	
Tis	Carcinome in situ : tumeur intraépithéliale ou envahissant la lamina propria (intramuqueuse) sans extension à la sous-muqueuse à travers la muscularis mucosae
T1	Tumeur envahissant la sous-muqueuse sans la dépasser
T2	Tumeur envahissant la musculature sans la dépasser
T3	Tumeur envahissant à travers la sous-muqueuse la sous-séreuse sans atteindre le revêtement mésothélial et le tissu péricolique non péritonéalisé
T4	Tumeur perforant le péritoine viscéral et/ou envahissant les organes de voisinage
Ganglions régionaux (N)	
N0	Absence de métastase ganglionnaire régionale
N1	Métastase dans un à trois ganglions lymphatiques régionaux
N2	Métastase dans quatre ou plus ganglions lymphatiques régionaux
Nx	Statut ganglionnaire non évaluable
Métastases (M)	
M0	Absence de métastase
M1	Présence de métastases (l'atteinte des ganglions iliaques externes ou iliaques communs est considérée comme M1)
Mx	Statut métastatique inconnu

Tableau 3 : Équivalence entre les différentes classifications utilisées dans le cancer colique. [19]

Stade	TNM			Dukes	Astler et Coller	Gun-derson et Sosin
Stade 0	Tis	N0	M0	A	A	A
Stade I	T1	N0	M0	A	A	A
	T2	N0	M0	A	B1	B1
Stade II	T3	N0	M0	B	B2	B2
	T4	N0	M0	B	B2	B3
Stade III	T1-T2	N1-N2	M0	C	C1	C1
	T3	N1-N2	M0	C	C2	C2
	T4	N1-N2	M0	C	C2	C3
Stade IV	Tout T	Tout N	M1	(D)	(D)	D

VI. Génétiques du cancer colorectal :

1 - Les gènes cibles dans le cancer colorectal :

Dans le cancer, les gènes touchés par des anomalies, ou des gènes cibles, sont des gènes impliqués dans :

- La régulation positive et négative de la prolifération cellulaire
- La régulation de la différenciation et de la sénescence cellulaire
- La régulation de l'apoptose
- Le contrôle du maintien de l'intégrité du génome : mécanisme de réparation de l'ADN, checkpoints et surveillance du déroulement de la réplication et de la ségrégation des chromosomes au cours de la mitose.

Globalement, ils sont regroupés dans trois catégories : les oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs, et les gènes de réparation des mésappariements ou gènes MMR. [20].

- **Les proto-oncogènes** : ont une action positive sur la prolifération cellulaire. Leurs versions mutées, appelées oncogènes, sont actives de façon excessive ou inappropriée. Il suffit de la modification d'une seule copie du gène pour activer un oncogène. Le plus impliqué dans le CCR est KRAS 2 le gène (K-ras).

-**Les gènes suppresseurs de tumeur** : au contraire ont une action négative sur la prolifération cellulaire. Les deux copies du gène doivent être modifiées pour qu'il perde sa fonction inhibitrice. Les gènes suppresseurs les plus impliqués dans le CCR sont **APC** (Adenomatous Polyposis Coli), **TP53** (gène de la protéine p53) et **DCC** (Deleted in Colorectal Cancer).

-**les gènes MMR (Mis-Match Repair)** : représentent les six gènes impliqués dans le système de réparation des mésappariement ; on cite h MLH1 (human mutL, homolog = gène homologue au mutL isolé chez *Escherichia coli*), h MSH2 (human mutS homolog = gène homologue au mutS isolé chez *Escherichia coli*), h PMS1, h PMS2, h MSH6, h MSH3 et h MLH3 [21].

2 - les différentes anomalies génétiques touchant ces gènes :

Les types d'anomalies touchant ces gènes cibles sont nombreux. Schématiquement, on peut distinguer trois grands types d'anomalies : anomalies chromosomiques, nucléotidiques et épigénétiques.

- Les anomalies chromosomiques :

Les anomalies chromosomiques touchent le nombre de chromosomes de la cellule, sa quantité d'ADN, ou touchent de gros fragments de chromosomes donc un très grand nombre de gènes en même temps. Dans le premier cas, on aura une aneuploïdie ou une polyploïdie. Dans le second cas il s'agit, soit d'une délétion le plus souvent (perte allélique), soit d'une amplification. Lorsqu'il y a délétion d'un bras chromosomique dans les cellules tumorales, on parle de perte d'hétérozygotie (par rapport au tissu normal) ou LOH pour Loss Of Heterozygosity.

Les segments les plus fréquemment perdus dans les CCR sont : le bras long du chromosome 5 (5q, contenant APC), le bras court du 17 (17p, contenant p53), le bras long du 18 (18q, contenant DCC). [22].

- Les anomalies nucléotidiques :

Les anomalies nucléotidiques touchent la séquence d'un gène en particulier. Globalement, ce sont des mutations ponctuelles (modification d'une paire de bases), de courtes délétions ou insertions. Elles peuvent entraîner un gain de fonction (pour les oncogènes) ou une perte de fonction (pour les gènes suppresseurs).

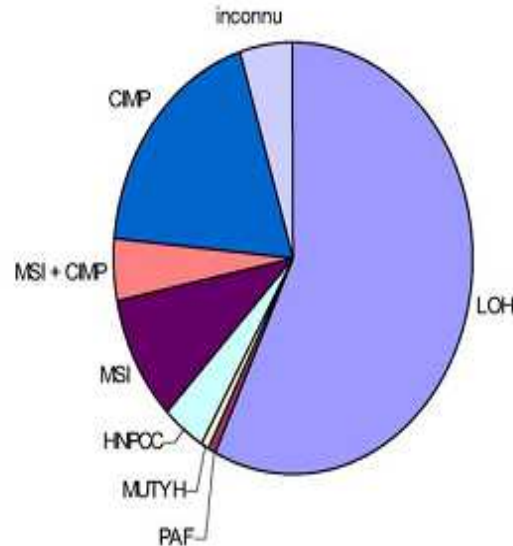
- Les anomalies épigénétiques :

N'altèrent pas la séquence codante du gène mais sa transcription. Ainsi, la méthylation du promoteur d'un gène bloque sa transcription, le rendant inactif. Il existe une méthylation physiologique, notamment liée à l'âge, et une méthylation pathologique, spécifique du cancer. [22]

En plus de ces anomalies, on retrouve des instabilités générant le développement du cancer, comme l'instabilité microsatellitaire.

-Les Instabilités :

L'accumulation de nombreuses mutations dans une même cellule ne peut se faire que par l'atteinte de la stabilité du patrimoine génétique de la cellule. Il existe différents types d'instabilités, auxquels correspondent différentes voies de carcinogenèse colorectale, permettant d'individualiser différents groupes de tumeurs (Fig. 3).



LOH :	Perte d'hétérozygotie
PAF:	Polypose adénomateuse familiale
MUTHY:	Mutation du gène MutY homologue
HNPCC:	Cancer colorectal non polyposis Hériditaire
MSI:	Instabilité des microsatellites
CIMP:	Phénotype méthylateur island de CpG

Figure3 : Répartition des différents types de cancers colorectaux. [23, 24]

-L'instabilité chromosomique : est la voie la plus fréquente dans le CCR (80 % des tumeurs sporadiques). Elle correspond au phénotype CIN pour chromosomal instability, ou aux cancers LOH. Elle entraîne des anomalies de nombre des chromosomes et des pertes alléliques fréquentes [23, 24]. Dans ce groupe de tumeurs, 20 % des chromosomes en moyenne ont subi une délétion majeure. Par ailleurs, les pertes alléliques sont fréquemment associées à des mutations de TP53 ou d'APC conduisant à une inactivation des deux copies de ces gènes suppresseurs. Cette voie de cancérogenèse correspond à la voie impliquée dans la polypose adénomateuse familiale (PAF). Le ou les gènes responsables de cette instabilité chromosomique ne sont pas encore connus, mais il pourrait s'agir entre autres du gène APC, dont la protéine joue un rôle dans la ségrégation des chromosomes lors de la mitose [25, 26].

-L'instabilité nucléotidique : est due à l'inactivation d'un système de réparation de l'ADN. Les anomalies survenant de façon habituelle dans chaque cellule ne peuvent pas être réparées efficacement, les mutations sont donc très fréquentes dans ce type de tumeurs. Deux systèmes de réparation différents ont été impliqués dans la cancérogenèse colique.

Le premier est le système de réparation des mésappariements de bases (MMR). Les gènes impliqués dans ce système sont nombreux, ceux touchés dans la cancérogenèse colique sont essentiellement MLH1 et MSH2 (et hMSH6). Les anomalies initiales sont principalement des mutations de MLH1 ou MSH2 (dans les tumeurs héréditaires) ou une méthylation du promoteur de MLH1 (dans les tumeurs sporadiques). La déficience du système MMR est responsable de mutations fréquentes dans des séquences répétées de nucléotides, appelées microsatellites. Leur phénotype est appelé instabilité des microsatellites (MSI, anciennement appelé RER pour Replication Error) et les mutations touchent des gènes cibles contenant des microsatellites : le gène du récepteur de type II du TGF β , le gène suppresseur de tumeur BAX. Ce groupe de tumeurs correspond au syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) et à 15 % des tumeurs sporadiques [27–28].

Le deuxième est le système de réparation par excision de bases (BER). Le gène dont les mutations sont retrouvées dans le CCR est MUTYH (pour MutY Homologue ou MYH). La déficience du BER est responsable d'une sensibilité accrue aux lésions oxydatives, avec des mutations spécifiques. Elle n'est pour l'instant retrouvée que dans un type de cancer héréditaire (MAP, polypose associée à MYH), mais la découverte de son implication dans les CCR est récente [29, 30].

Enfin, L'instabilité épigénétique : concerne 20 à 30 % des tumeurs sporadiques. Cette voie de carcinogenèse intéresse les tumeurs de phénotype CIMP, pour CpG Island Methylator Phenotype. Celui-ci entraîne l'inactivation de nombreux gènes suppresseurs de tumeur par hyperméthylation de leurs promoteurs. Parmi les gènes suppresseurs inactivés, on rencontre fréquemment MLH1 (gène du MMR), dont l'inactivation entraîne un phénotype MSI : les deux groupes MSI et CIMP peuvent donc se chevaucher. Le ou les gènes responsables de ce phénotype CIMP ne sont pas encore connus [31–34].

3) Formes héréditaires du cancer colorectal :

Les cancers héréditaires posent un énorme problème de santé publique ; en effet, ce sont 10% des cancers qui auraient pour une origine une mutation génétique héréditaire.

Le diagnostic moléculaire de maladies génétiques offre la possibilité de recourir au dépistage génétique pour diagnostiquer les personnes atteintes de cancer et prévoir le risque de cancer chez les parents indemnes. [35].

Dans le cancer colorectal, deux maladies représentent des prédispositions majeures ; la polypose adénomateuse familiale PAF et le syndrome de Lynch HNPCC. [36] mais il existe d'autres types dont on va citer ici :

3.1) Polypose adénomateuse familiale PAF :

Responsable de près de 1 % des CCR, la PAF est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante. Affectant aussi bien l'homme que la femme, elle se caractérise par l'apparition, en général à la puberté, de centaines à milliers d'adénomes disséminés sur le côlon et le rectum [37].

Dans sa forme atténuée, l'apparition des adénomes coliques est plus tardive (vers l'âge de 30 à 40 ans), leur nombre plus limité (de quelques-uns à une centaine) et l'atteinte rectale exceptionnelle. Les adénomes dans la forme atténuée ont cependant un risque élevé de transformation maligne.

La PAF est due à une mutation germinale dans le gène suppresseur de tumeur APC (adenomatous polyposis coli) localisé sur le chromosome 5q21 [38, 39]. Le gène APC est composé de 8 535 paires de bases. Il est organisé en 21 exons et code une volumineuse protéine de 2843 acides aminés dans son isoforme classique [40]. À côté des mutations germinales d'APC à l'origine de la PAF, des mutations somatiques sont observées dans 60 à 80 % des tumeurs colorectales sporadiques [37].

La protéine APC a de multiples fonctions dans la cellule : elle est impliquée dans le contrôle de la voie de signalisation Wnt, dans l'adhésion cellulaire, la migration, l'apoptose et la ségrégation des chromosomes lors de la mitose [41]. L'inactivation de la protéine APC semble impliquée à la fois dans l'initiation tumorale (avantage de sélection via l'activation constitutive de la voie de signalisation Wnt) et dans la progression tumorale (augmentation du taux de mutations via l'instabilité chromosomique) [41].

Par ailleurs, dans la PAF, la position de la mutation sur le gène APC est corrélée au phénotype de la maladie : ainsi le nombre de polypes (polypose classique ou atténuée), la présence de tumeurs desmoïdes, d'hyperpigmentation rétinienne, dépendent de la nature de la mutation [42].

(Le gène APC intervient à l'état normal dans la dégradation intracellulaire des caténines. Sa mutation entraîne l'accumulation de caténines dans le cytoplasme et le noyau des cellules.

Dans le noyau, elles forment un complexe avec le facteur de transcription Tcf qui va activer Des gènes de croissance et de prolifération cellulaire, c-Myc par exemple).

Le diagnostic génétique moléculaire intervient le plus souvent dans le diagnostic précoce de la maladie chez les membres de la famille à risque et dans la confirmation de la PAF lorsque les signes cliniques sont équivoques. [43]

- **Impact du dépistage moléculaire sur la prise en charge clinique :**

Les mutations d'APC surviennent tôt dans la cancérogénèse colorectale [44], le dépistage moléculaire des mutations du gène APC aux fins diagnostiques, s'il s'avère positif, favoriserait la détection et le traitement précoces de la PAF à savoir une sigmoidoscopie à intervalles réguliers avec colectomie préventive lorsque les polypes apparaissent.

Le diagnostic moléculaire de la PAF est utile quand le résultat est négatif en permettant aux non porteurs de se soustraire à la surveillance clinique et sigmoidoscopie.

3.2) Cancer colorectal non polyposique héréditaire HNPCC :

Le syndrome HNPCC (pour « Hereditary non polyposis colon cancer » ou syndrome de Lynch) est responsable de 3 à 5% des cancers colorectaux [45]. De transmission autosomique dominante, il est dû à une mutation constitutionnelle d'un des gènes du MMR, essentiellement MLH1 et MSH2. Les tumeurs du syndrome HNPCC présentent une instabilité des microsatellites (phénotype MSI).

Le spectre tumoral du syndrome HNPCC est large, mais les risques tumoraux majeurs sont le CCR (risque cumulé de 80% à 80 ans) et le cancer de l'endomètre (42 à 60% à 70 ans) [46,47].

Outre la prédisposition au CCR, le syndrome HNPCC expose au risque de survenue de tumeurs extra-coliques. Il est dû à des mutations germinales d'un des gènes impliqués dans la réparation des mésappariements survenant au cours de la réplication de l'ADN : hMLH1 (60 %), hMSH2 (35 %), hMSH6 (4-10 %), hPMS1 (< 1,5 %), hPMS2 (< 1,5 %) et hMLH3 (< 1,5 %) [48, 49].

L'inactivation d'un de ces gènes de réparation résulte dans une instabilité observée au niveau des loci de type microsatellites (séquences répétitives d'ADN) dans l'ADN tumoral. Cette instabilité (MIN ou MSI pour « microsatellite instability ») observée dans 80- 92 % des cancers de type HNPCC est par ailleurs retrouvée dans 15 % des CCR sporadiques [37]. Contrairement à la PAF, la fréquence des adénomes dans les syndromes HNPCC est comparable à celle dans la population générale.

- **Dépistage moléculaire du syndrome de Lynch :**

La coloration immunohistochimique (CIH) et l'analyse de l'instabilité des microsatellites sont deux techniques de dépistage préliminaire appliquées au tissu tumoral. La CIH pour déterminer l'expression de MLH1 et MSH2 représente une méthode rapide de dépistage préliminaire des tumeurs dans la recherche de mutations causales du syndrome de Lynch. [50].

Le dépistage génétique est une option importante dans la prise en charge clinique du syndrome. Il permet de réduire la morbidité et la mortalité chez les personnes à risque de HNPCC par le dépistage précoce et approfondi. [51]. S'agissant des porteurs de mutations reliées au HNPCC, la colectomie demeure la méthode la plus efficace pour réduire le risque de cancer colorectal.

3.3) Polypose associée à MUTYH (MAP) :

La polypose liée à une mutation du gène MYH est de connaissance plus récente. La particularité de cette prédisposition est sa transmission récessive, c'est-à-dire que les sujets atteints ont reçu un allèle muté de chacun de leurs parents et qu'un quart des enfants seront atteints. Il faut y penser devant une polypose sans PAF dans la famille (surtout dans les formes atténuées). Leurs descendants ne seront pas atteints sauf si leur conjoint est aussi porteur d'une mutation de MYH. Par prudence, un test génétique peut être proposé aux enfants.

L'implication du gène MUTYH dans la prédisposition au cancer colique a été découverte récemment. L'inactivation biallélique de ce gène du BER entraîne une polypose semblable cliniquement à la PAF, mais à transmission autosomique récessive [52,53].

3.4) Polypose juvénile familiale :

Cette polypose rare est caractérisée par la présence de nombreux polypes du côlon et du rectum, mais aussi de l'estomac, du duodénum et du grêle. Les polypes sont majoritairement hamartomateux mais il existe tout de même une prédisposition au CCR avec un risque évalué à 50%. Il s'agit d'une maladie autosomique dominante pour laquelle des mutations de plusieurs gènes ont été retrouvées : les gènes suppresseurs de tumeur SMAD4 et PTEN [54].

4) Le cancer colorectal sporadique :

La tumorigenèse colique suit un processus multiétapes. La séquence adénome-cancer a été décrite en 1990 par Fearon et Vogelstein [55] comme un processus linéaire. En fait, plusieurs voies de cancérogenèse peuvent mener à ces étapes successives (Fig. 4) : l'instabilité chromosomique (cancer LOH), l'instabilité des microsatellites (MSI) ou le phénotype méthylateur (CIMP) [56,57]. Chaque voie aboutit au même résultat (un cancer), en altérant un panel de gènes différents, spécifiques de la voie, mais dont les protéines interagissent entre elles. Par exemple, un cancer CIN portera une mutation d'APC, alors qu'un cancer MSI aura plutôt une mutation de β -caténine ; les deux protéines APC et β -caténine interagissant entre elles, la résultante fonctionnelle sera semblable [58]. Par ailleurs, les différentes voies de cancérogenèse semblent donner des tumeurs aux caractéristiques différentes.

Ainsi, les cancers LOH sont plus fréquemment retrouvés au niveau du colon gauche. En revanche, les cancers-colorectaux sporadiques de phénotype MSI sont plutôt localisés sur le colon droit et sont en général dus à une perte d'expression du gène MLH1 liée à une hyperméthylation du promoteur et associés à une infiltration lymphocytaire péri-tumorale marquée. La plupart des études ont montré qu'à stade égal, les patients ayant une tumeur de phénotype MSI ont une meilleure survie que les patients ayant une tumeur avec des séquences MicroSatellites Stables (MSS).

Quant au phénotype CIMP, sa découverte est plus récente, et il présente des corrélations au niveau moléculaire avec les tumeurs MSI qui le rendent pour le moment difficilement individualisable au plan clinique.

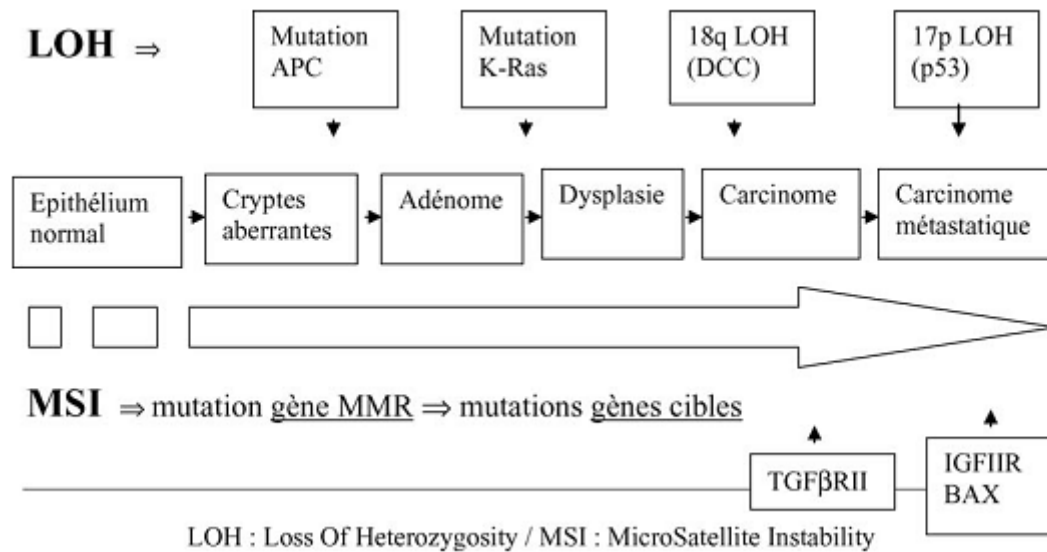


Figure 4: Modèle de cancérogenèse colorectale. [56,57]

4.1) La voie LOH ou CIN :

Les CCR de type LOH représentent environ les trois quarts des CCR sporadiques et tous les CCR héréditaires développés sur polypose adénomateuse familiale (PAF). Ils sont définis par la perte de chromosome(s) ou de fragments de chromosomes [59]. Le type LOH est caractérisé par une aneuploïdie des cellules, des pertes alléliques fréquentes, des mutations fréquentes des gènes (adenomatous polyposis coli), *KRAS* et *P53*, une localisation préférentielle dans le côlon distal et un mauvais pronostic. Nous ne détaillerons dans ce type de cancer que la mise en jeu de la voie de *KRAS*.

La voie RAS/RAF/MAPK est une voie de signalisation intracellulaire qui intervient dans la régulation de la prolifération, de la survie, de la différenciation, de la migration cellulaire et de l'angiogenèse, après une cascade de phosphorylations successives. Les principaux récepteurs de facteurs de croissance capables d'activer cette voie de signalisation sont l'EGFR (ou HER1) (epidermal growth factor receptor) et les autres membres de la famille HER, l'IGFR (insulin-like growth factor receptor) et le PDGFR (platelet derived growth factor receptor).

L'EGFR est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase, présent au niveau de la plupart des cellules épithéliales. L'activation de l'EGFR intervient dans la prolifération et la migration cellulaire, l'angiogenèse et l'inhibition de l'apoptose. L'EGFR comprend trois domaines : (i) un domaine extracellulaire auquel se lient des ligands spécifiques tels que l'EGF et TGF α (transforming growth factor α), mais aussi l'amphiréguline, l'épiréguline, la β -celluline, HB-EGF et les neurorégulines [60] ; (ii) un domaine transmembranaire hydrophobe qui est impliqué dans les interactions entre les récepteurs cellulaires de surface ; (iii) un domaine intracellulaire doté de l'activité tyrosine kinase. La fixation du ligand sur le récepteur aboutit, après homo- ou hétérodimérisation, à une autophosphorylation au niveau de résidus tyrosine spécifiques situés sur son domaine intracellulaire. Ces résidus phosphorylés servent ensuite de point d'ancrage à des protéines intracellulaires à domaine SH2 qui jouent un rôle central dans la transmission de voies de signalisation.

Les deux principales voies de signalisation sont

(i) la voie des MAP (mitogen-activated protein) kinases, à laquelle appartiennent les protéines KRAS et BRAF ; et
(ii) la voie PI3K (phosphoinositide 3-kinase)/PTEN (phosphatase protein homolog to tensin)/AKT. La voie MAPK intervient dans la prolifération cellulaire, et la voie PI3K/PTEN/AKT, dans la survie et la motilité cellulaires.

(i) La voie RAS/RAF/MAP :

La voie RAS/RAF/MAP kinase a pour fonction la transduction du signal du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire. Elle garantit le lien entre les récepteurs membranaires et les protéines kinases intracytoplasmiques. La fixation d'un facteur de croissance sur le récepteur membranaire (EGFR), provoque une dimérisation et une autophosphorylation de ce dernier. Les protéines RAS sont autophosphorylées et passent alors vers un état actif où elles sont liées au GTP. Cette réaction est catalysée par une protéine G appartenant à la famille des protéines appelée GEF (Guanine nucleotide exchange factors). Une fois activée, la protéine Ras active la protéine Raf, provoquant une transduction du signal vers les protéines MAPK, induisant l'expression de gènes dans le noyau de la cellule et une réponse cellulaire. Cette voie contribue alors à la régulation de la prolifération cellulaire et de l'apoptose.

-Le gène K-ras :

KRAS est un proto-oncogène humain homologue d'un oncogène viral (gène transformant) isolé à partir du « Kirsten RAT Sarcoma virus », localisé sur le chromosome 12 (12p12.1), code pour une protéine de 21 kD environ. Constitué de six exons et mesurant 38 kb. [61].

Gène K-ras (12p12.1)



Figure 5 : Localisation chromosomique du gène K-ras sur le chromosome 12

Le gène *KRAS*, code pour une protéine G monomérique activée par les récepteurs membranaires des facteurs de croissance. Il intervient, entre autres, dans le contrôle du cycle cellulaire et l'organisation du cytosquelette. En cas de mutation du gène, la protéine est activée en permanence, en l'absence de facteur de croissance (mutation activatrice).

Les mutations de *KRAS* sont parmi les altérations génétiques les plus précoces au cours de la cancérogenèse colorectale, survenant habituellement dès le stade d'adénome [62]. Ces mutations sont dites dominantes : l'altération d'un seul allèle suffit à l'activation de ce proto-oncogène en oncogène, à son tour responsable de l'activation dérégulée de diverses voies de transduction de signaux intracellulaires.

Par ailleurs, ces mutations étaient mutuellement exclusives de celles présentes sur le gène EGFR.

-Le gène B-raf :

Le gène B-raf est localisé sur le bras long q du chromosome 7 (7q34) et recouvre approximativement 150pb, il code pour une protéine de 806 aa. [63]

La protéine Raf pour Rapidly Accelerated Fibrosarcoma est une sérine-thréonine kinase. Ces protéines jouent un rôle clé dans divers procédés physiologiques à savoir le métabolisme cellulaire, la progression du cycle cellulaire et la mort cellulaire. [64] et participe à la voie de signalisation des MAP kinases.



Figure 6 : Localisation chromosomique du gène B-raf sur le chromosome 7

La mutation de *BRAF*, mutuellement exclusive de celle de *KRAS*, est présente dans 5 à 10 % des CCR.

L'autre grande voie de signalisation intracellulaire pouvant être activée par l'EGFR est la voie PI3K/AKT. Cette voie peut être activée, soit directement par activation de l'EGFR, soit par l'intermédiaire de la protéine KRAS. Cette voie est normalement contrebalancée par la fonction pro-apoptotique de PTEN [65] ;

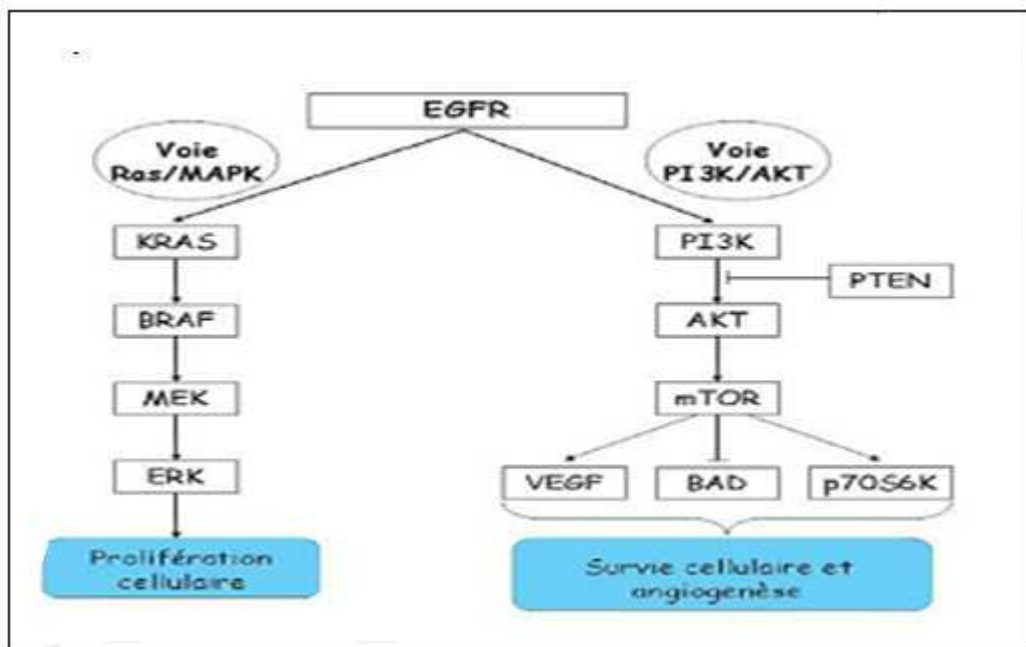


Figure 7 : voie de signalisation simplifiées des MAP Kinases et PI3K/PTEN/AKT [65]

4.2) La voie MSI :

•Définition du phénotype MSI (MicroSatellite Instability) :

Environ 15% des cancers colorectaux présentent une instabilité des séquences microsatellites. Ce phénotype MSI (autrefois appelé RER pour Replication Error) est caractérisé par des altérations de longueur des répétitions nucléotidiques, altérations acquises et touchant l'ensemble du génome. Il est dû à un défaut du système de détection et de réparation des mésappariements (système MMR pour MisMatch Repair) qui corrige les erreurs survenues lors de la replication de l'ADN.

Ce phénotype MSI est observé dans les syndromes HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colon Cancer) mais également dans les cancers colorectaux sporadiques.

L'instabilité des microsatellites (MSI) se caractérise par la variation anormale du nombre de séquences répétées dans l'ADN tumoral comparé à l'ADN du même patient provenant de tissu sain. La recherche de MSI est effectuée par PCR de cinq marqueurs microsatellites répartis dans le génome des cellules tumorales. [61]

Le génome humain est constitué de nombreuses séquences répétées parmi lesquelles les microsatellites, par exemple 5'-CA CA CA CA CA CA CA (écrit aussi sous la forme [CA]₇, constituée de sept répétitions, de deux nucléotides ou dinucléotide, [CA]). Le nombre de séquences répétées est variable.

Lorsque la taille des éléments répétés est inférieure à cinq paires de bases, on parle de microsatellites (par exemple, CA, dinucléotide ; GTC, trinucleotide ; TGCAT, tétranucleotide). On parle aussi de STRs (short tandem repeats). Leur localisation est variable dans le génome. Elles peuvent se trouver dans les régions non codantes (intergéniques ou intragéniques) ou dans les parties codantes des gènes. Le nombre de ces répétitions est souvent très variable d'un individu à un autre (on parle de polymorphisme de répétition). [66]

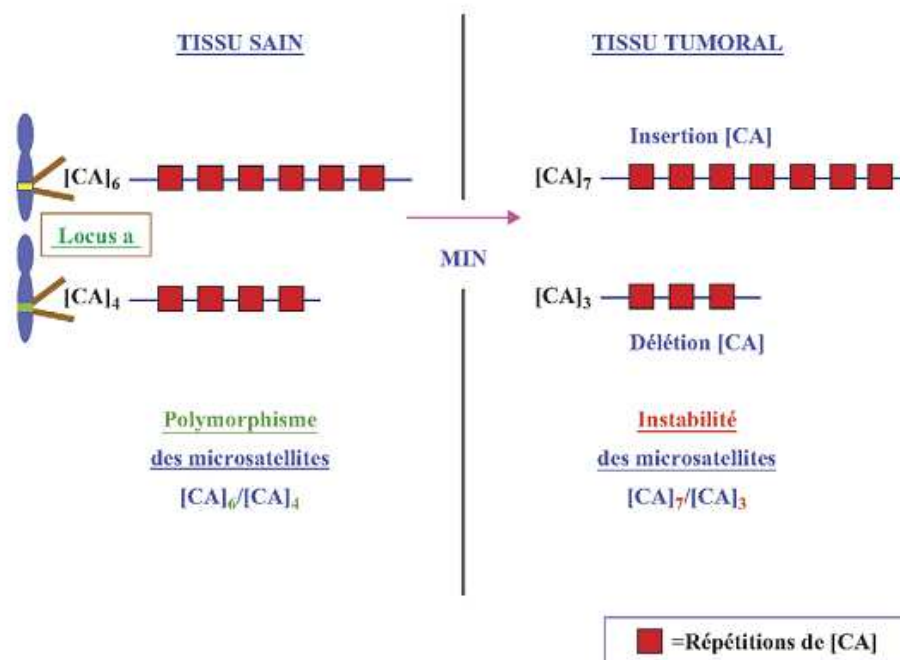


Figure 8 : Principe de l'instabilité des microsatellites. [66]

Le système de réparation des mésappariements des bases (système MMR pour mismatch repair) reconnaît et répare les erreurs produites par l'ADN polymérase lors de la réplication de l'ADN. Le système MMR a d'abord été décrit chez la bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*). Son fonctionnement chez les eucaryotes n'est pas totalement connu à ce jour. Chez la bactérie, le système MMR est composé de trois protéines principales, MutS, MutL et MutH. Chez les mammifères, il existe 5 homologues de MutS (de MSH2 à MSH6), 4 homologues de MutL (MLH1, MLH3, PMS1 et PMS2), tandis que MutH n'a pas d'homologue connu.

La reconnaissance des mésappariements des bases et des insertions/délétions de un ou plusieurs nucléotides fait intervenir MSH2, qui réalise un hétérodimère avec MSH3 ou MSH6, créant un complexe analogue à MutS de la bactérie. Les mésappariements ne touchant qu'une seule base sont plutôt réparés par le complexe MSH2/MSH6 (appelé MutS α), tandis que la réparation d'insertions/délétions de plus grande taille (de 2 à 8 bases) fait plutôt intervenir le complexe MSH2/MSH3 (MutS β). Les erreurs de type insertion/délétion d'un seul nucléotide font intervenir les complexes MSH2/MSH3 et MSH2/MSH6, qui sont alors redondants. La reconnaissance des mésappariements est assurée principalement par MutS α , qui est présent à des taux plus importants que MutS β . La redondance partielle de MSH3 et de MSH6 sur la réparation des erreurs de type insertion/délétion a des conséquences sur l'instabilité de microsatellites, l'un des traits phénotypiques clé des tumeurs MMR déficientes. En effet, alors que les tumeurs MSH2-déficientes présentent invariablement un phénotype MSI en raison de l'inactivation des deux hétérodimères, le degré d'instabilité de microsatellites dans les tumeurs MSH6-déficientes peut varier, car l'hétérodimère MSH2/MSH3 compense partiellement la perte de fonction de l'hétérodimère MSH2/MSH6 pour la réparation des erreurs de type insertion/délétion. Une déficience en MSH2 a pour conséquence une dégradation protéolytique à la fois de MSH3 et de MSH6, tandis que MSH2 reste stable en l'absence de l'un de ses partenaires [67].

MLH1 est capable de former des hétérodimères avec les 3 autres protéines homologues de MutL : PMS2, PMS1 et MLH3. C'est le complexe MutL α , formé par MLH1 et PMS2 qui est le composant majeur du système MMR capable d'interagir avec les deux types de complexes contenant MSH2, MutS α et MutS β . Il existerait deux autres hétérodimères contenant MLH1 : MLH1/PMS1 et MLH1/MLH3. L'hétérodimère MLH1/MLH3 pourrait être impliqué dans la réparation de certaines boucles insertions/délétions, en concert avec MutS β .

- Statut MSI dans le cancer du colon sporadique :

Les cancers colo-rectaux sporadiques de phénotype MSI sont en général dus à une perte d'expression du gène MLH1 liée à une hyperméthylation du promoteur de ce gène. La plupart des études ont montré qu'à stade égal, les patients ayant une tumeur de phénotype MSI ont une meilleure survie que les patients ayant une tumeur avec des séquences MicroSatellites Stables (MSS).

Récemment, la mutation V600E (pour certains auteurs, V599E) dans le gène codant pour BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, Omim 164757) a été associée au statut MSI des tumeurs coliques sporadiques (mais, non au syndrome HNPCC). D'autres mutations sont décrites dans le gène BRAF. Seule, la mutation V600E possède cette association sans que le mécanisme en cause ne soit connu. Ce gène dont un certain nombre de mutations est impliqué dans d'autres cancers, appartient à la famille des gènes RAF codant pour des kinases régulées par les gènes Ras et impliquées dans la réponse cellulaire aux signaux de croissance. La mutation V600E est présente dans environ 40 % des cancers du

côlon sporadique ayant un statut MSI positif [68, 69, 70]. Cette mutation est retrouvée plus rarement dans les cancers du côlon sporadiques sans MSI [69]. Dans ce dernier cas, elle serait associée à un moins bon pronostic [71]. La mutation V600E est ainsi étroitement corrélée à l'hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 et donc à l'absence d'expression de ce dernier gène [72, 73, 74, 75]. Certains auteurs ont alors proposé d'associer systématiquement la recherche de cette mutation à la recherche de MSI, la présence de la mutation V600E affirmant un cancer sporadique en présence d'une tumeur colique avec MSI ce qui éviterait la recherche de mutations dans les gènes MMR. Il n'y a cependant pas encore de consensus international pour la recherche de cette mutation [76, 70]. D'autres gènes non identifiés et impliqués dans la maintenance surveillance de l'ADN sont probablement en cause [70]. Par ailleurs, la mutation sur le gène BRAF est le plus souvent mutuellement exclusive avec la mutation sur le gène K-RAS, les mutations sur ce dernier gène étant essentiellement associées à un cancer du côlon sans instabilité de microsatellites [77, 75]. Cette dernière notion est cependant contestée par certains auteurs [41]. Comme cela a déjà été précisé, la présence de MSI peut correspondre à un défaut de réparation des mésappariements au cours de la réplication de l'ADN (conséquence d'une mutation germinale sur un des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN) ou la conséquence d'une inactivation biallélique somatique du gène MLH1. Il peut donc s'agir d'un syndrome de Lynch (où le MSI est présent 95 % des cas) ou d'un cancer sporadique (où le MSI est présent dans 10–20 % des cas). Afin de chercher une signature moléculaire spécifique séparant les patients avec MSI et MSS (sans instabilité de microsatellites) tant dans les cancers sporadiques que dans les HNPCC, différents tissus tumoraux coliques ont été étudiés à partir de l'expression de 15 000 gènes représentés sur une puce d'ADN. Les tumeurs MSI ont pu être séparées en cancer sporadique ou en tumeur HNPCC à partir de l'expression de deux gènes seulement, hMLH1 et PIWIL1 (Omim 605571), ce dernier gène ayant un rôle encore mal défini [78]. Il est fort probable que d'autres gènes modulent le risque de développer un cancer du côlon [79].

Le phénotype MSI est mis en évidence lors de la comparaison des produits d'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) de loci microsatellite, obtenus à partir de l'ADN tumoral et non tumoral du même patient. Ces analyses moléculaires peuvent être réalisées à partir de tissu congelé ou de tissu fixé au formol et inclus en paraffine. Le phénotype MSI se traduit par l'apparition d'allèles de taille différente dans la tumeur, n'existant pas dans l'ADN non tumoral du patient. Une conférence de consensus internationale a proposé en 1998 un panel de référence comportant 5 marqueurs microsatellites (BAT25, BAT26, D2S123, D17S250 et D5S346) et défini le phénotype MSI « high » par la présence de deux marqueurs ou plus instables (ou plus de 30% des microsatellites instables si l'analyse est étendue à un plus grand nombre de microsatellites). Les tumeurs présentant un seul marqueur instable, appelées « MSI-Low », ne présentent pas de caractéristiques cliniques, histologiques et moléculaires différentes des tumeurs ayant des séquences MicroSatellites Stables (MSS) et sont donc actuellement considérées comme telles. Un autre panel, constitué de 5 marqueurs mononucléotidiques quasi-monomorphe (BAT25, BAT26, NR21, NR22 et NR24 qui semble plus sensible pour la détection du phénotype MSI (avec un seuil de positivité d'au moins 3 marqueurs instables), a été proposé comme alternative au panel d'origine [80].

Il est possible, avec ce panel, d'utiliser de l'ADN extrait de tissus fixés en formol 4 % prédilué et tamponné à pH 7,2- 7,4 et inclus en paraffine. En revanche, il est impossible d'utiliser de l'ADN extrait à partir de prélèvements fixés dans du liquide de Bouin.

- L'immunohistochimie (IHC) :

L'alternative au génotypage pour la détermination du statut MSI d'une tumeur est l'immunohistochimie. En effet, les altérations génétiques ou épigénétiques des gènes du système MMR se traduisent par une perte de fonction, et d'expression dans la plupart des cas, de la protéine correspondante.

L'IHC permet d'étudier, sur une coupe histologique, l'expression tissulaire des protéines du système MMR. À l'état normal, ces protéines sont ubiquitaires et de localisation nucléaire. Elles sont exprimées en particulier dans les cellules du tiers inférieur des cryptes de la muqueuse intestinale, dans les lymphocytes du centre germinatif des follicules lymphoïdes, dans les lymphocytes et dans les cellules endothéliales du stroma de la tumeur. Le principe du test IHC consiste à rechercher une perte d'expression, par les cellules tumorales, de la protéine étudiée, les deux copies du gène étant inactivées dans les tumeurs MSI.

La perte d'expression ne s'observe que dans les cellules tumorales, et il est donc nécessaire de disposer d'un témoin interne positif sur la coupe.

L'expression des principales protéines du système MMR peut être actuellement étudiée à l'aide d'anticorps monoclonaux disponibles dans le commerce depuis 1996 : hMLH1, hMSH2, hMSH6 et hPMS2. La perte d'expression des protéines hMLH1 et hMSH2 est exclusive, c'est-à-dire elle ne concerne qu'une seule des deux protéines.

En revanche, en cas de perte d'expression de la protéine hMLH1, on observe une perte d'expression conjointe de la protéine hPMS2. De la même manière, l'extinction de la protéine hMSH2 s'accompagne d'une extinction de la protéine hMSH6. À l'inverse, hMLH1 reste stable en l'absence de la protéine hPMS2, probablement du fait d'interactions avec d'autres homologues de MutL, tels que hPMS1 ou hMLH3.

L'extinction des protéines hMSH2, hMSH6 et hPMS2 est un bon argument en faveur d'une altération constitutionnelle, à l'exception des rares CCR MSI survenant dans un contexte de maladie inflammatoire chronique de l'intestin [82]. L'extinction de la protéine MLH1 peut être liée, quant à elle, soit à une mutation constitutionnelle de *MLH1* soit à une méthylation de son promoteur, en relation, dans ce dernier cas, avec un mécanisme de sénescence de l'épithélium colique, comme cela s'observe dans les cancers MSI sporadiques.

L'IHC est une technique peu onéreuse et peu consommatrice de temps. Elle est utilisée en routine dans les laboratoires d'anatomie pathologique. C'est une technique extrêmement sensible, utilisable même si l'on dispose de peu de matériel tumoral (biopsie, carcinome mucineux pouvant être responsable de faux négatifs avec la technique du génotypage, cancer du rectum en grande partie stérilisé par le traitement néo-adjuvant). Elle permet en outre de déterminer la protéine défectueuse, et d'orienter ainsi les généticiens vers le gène *MMR* à séquencer [81].

VII. Prévention et traitement du cancer colorectal :

1) Prévention :

Dans la population générale, on identifie trois niveaux de risque : moyen, élevé et très élevé. [83].

Un risque très élevé est défini comme le risque observé chez des sujets ayant des antécédents personnels d'adénome ou de cancer colorectal ou encore appartenant à une famille atteinte de polypose adénomateuse familiale (PAF) ou de cancer colorectal héréditaire sans polypose (HNPCC).

Il est recommandé de proposer à ces sujets une consultation de génétique oncologique pour la recherche de mutations.

Dans la PAF la détection se fait par sigmoidoscopie à partir de la puberté jusqu'à 40 ans. Dans le HNPCC, on préconise la coloscopie totale tous les deux ans à partir de 25ans.

Alors qu'un risque élevé est défini comme le risque observé chez des sujets apparentés au premier degré à un patient atteint de cancer colorectal avant 60 ans, ou apparentés au premier degré à deux parents atteints de cancer colorectal (quel que soit l'âge). [84]

On distingue par contre, une prévention primaire qui consiste entre autres en la correction des habitudes alimentaires, qui aurait une influence importante sur l'apparition du cancer colorectal : environ 30 à 40% des cancers du colon et du rectum pourraient en effet être prévenus par une alimentation adéquate.

La consommation du poisson aurait aussi un effet protecteur : le risque de cancer colorectal est de 31% inférieur chez les personnes qui ont une consommation plus élevée de poisson par rapport aux sujets qui en consomment le moins. [85]

La promotion des activités physiques et la multiplication des opportunités pour pratiquer un sport auraient également un rôle important dans ce domaine.

2) Traitement :

La chirurgie est le principal traitement, dans la plupart des cas. Elle consiste en une exérèse "en bloc" de la tumeur associée à l'ablation des différents relais ganglionnaires. Une radiothérapie est systématiquement associée à la chirurgie car elle permet de diminuer les récidives locales. Cette radiothérapie est réalisée avant la chirurgie, en association avec une chimiothérapie.

2.1) Thérapies ciblées anti-EGFR :

Une meilleure connaissance des cibles moléculaires des chimiothérapies a permis l'identification de facteurs génétiques prédictifs de la réponse et/ou de la toxicité aux drogues utilisées dans les cancers digestifs. [87].

Parmi les nouvelles thérapies utilisées, les anticorps anti-EGFR.

C'est à partir du constat du rôle de la voie de l'EGFR (le récepteur de l'epidermal growth factor) dans la tumorigenèse colorectale et d'études précliniques in vivo et in vitro ayant montré que le blocage de l'EGFR pouvait inhiber la croissance des cellules tumorales, que des thérapeutiques ciblées anti-EGFR ont fait leur apparition dans l'arsenal thérapeutique du CCR métastatique. Il s'agit de deux anticorps monoclonaux anti-EGFR, le cetuximab (Erbix®) et le panitumumab (Vectibix®), qui se lient à l'EGFR avec une haute spécificité et bloquent la phosphorylation du récepteur induite par le ligand. L'efficacité de ces deux molécules est désormais bien démontrée dans le traitement du CCR métastatique [88]. Les

molécules ciblant de façon sélective le domaine tyrosine kinase de l'EGFR, l'erlotinib (Tarceva®) et le gefitinib (Iressa®), n'ont montré, à ce jour, aucune efficacité dans le CCR, contrairement à d'autres cancers (cancer pulmonaire non à petites cellules avancé et cancer du pancréas).

Les récepteurs EGFR sont des molécules transmembranaires permettant à partir de signaux extracellulaires (facteurs de croissance), une succession d'évènements intracellulaires dont la transduction, entraînant une activation du facteur de transcription qui a pour résultat la croissance cellulaire, la différenciation, la survie, la progression du cycle cellulaire, l'angiogénèse et la réponse aux médicaments. [61].

2.2) La protéine EGFR :

Le REGF est une glycoprotéine transmembranaire, membre d'une sous-famille de récepteurs à tyrosine kinase comprenant le REGF (HER1), HER2, HER3, et HER4. Son activation par autophosphorylation est induite par la fixation de ses ligands naturels, l'EGF et le TGF.

Cette glycoprotéine est de 170 KDa codée par un proto-oncogène situé sur le chromosome 7q22. Composés d'un domaine de fixation extracellulaire, d'un domaine lipophile transmembranaire et d'un domaine tyrosine kinase.

2.3) Stimulation d'EGFR et transduction de signal :

Plusieurs ligands se fixent sur le domaine tyrosine kinase de l'EGFR, provoquant sa dimérisation. Cette modification moléculaire provoque l'activation de sa tyrosine kinase et son autophosphorylation, puis l'activation d'un ensemble de signaux moléculaires intracellulaires. [89]

Cette voie de transduction induit l'expression de gènes dans le noyau de la cellule et une réponse cellulaire. Après fixation du ligand et transmission du signal de transduction, l'EGFR est internalisé dans la cellule, inactivé et dégradé ou recyclé à la surface de la membrane cellulaire. [90].

2.4) Traitement du cancer colorectal par inhibition d'EGFR :

L'EGFR est exprimé dans 60 à 80 % des cancers colorectaux. [91]. L'activation de l'EGFR dans la tumeur joue un rôle majeur dans la tumorigénèse en stimulant la prolifération cellulaire et en inhibant l'apoptose. Elle favorise aussi l'angiogénèse et génération de métastases.

Les anticorps anti-EGFR sont des inhibiteurs des EGFR. En se fixant sur leur cible, ils provoquent l'internalisation d'EGFR et sa dégradation. Actuellement, il existe deux inhibiteurs commercialisés pour le traitement des cancers colorectaux : Cetuximab et Panitumumab.

a) Cetuximab :

Le cétuximab est un anticorps monoclonal chimérique de type IgG1 qui se lie spécifiquement à l'EGFR avec une plus grande affinité que le TGF. Il bloque la phosphorylation du récepteur, vient se fixer sur la partie extracellulaire de l'EGFR,

empêchant ainsi que son ligand ne s'y fixe. Il en résulte une inhibition de la dimérisation et de l'activation de l'EGFR et, par conséquent, des voies de signalisation intracellulaires situées en aval (fig.9).

b) Panitumumab :

Le panitumumab (Vectibix) a le même mécanisme d'action, mais avec la particularité d'être un anticorps monoclonal de type IgG2 et totalement humain, qui s'oppose à la fixation du ligand sur l'EGFR, inhibant de ce fait la transduction du signal et donc l'ensemble des mécanismes de prolifération cellulaire, d'angiogenèse et de dissémination des métastases. [87].

Le cétuximab a été le premier anticorps anti-EGFR à avoir été développé dans le traitement du cancer colorectal métastatique. Des études de phase II ont montré son efficacité en cas de tumeur colorectale résistante à une chimiothérapie à base d'irinotécan puis à toutes les chimiothérapies conventionnelles du cancer colorectal.

L'indication initiale du cétuximab selon l'autorisation de mise sur le marché (AMM) était donc le traitement du cancer colorectal métastatique résistant à l'irinotécan (en monothérapie ou associé à une chimiothérapie à base d'irinotécan).

Le panitumumab, développé ensuite, a d'emblée montré dans une étude de phase III randomisée sa supériorité en monothérapie par rapport à des soins de confort en termes de survie sans progression chez des patients chimiorésistants.

Parmi les facteurs de résistance primaire aux anticorps anti-EGFR, il est maintenant établi que les mutations du gène *KRAS*, en aval de l'EGFR, ont un rôle prédictif majeur de la résistance aux anticorps anti-EGFR [92]. Les mutations du proto-oncogène *KRAS*, qui sont observées dans 30 à 50 % des CCR sporadiques, représentent un marqueur quasi-certain de résistance aux anticorps anti-EGFR [93].

Les mutations affectent surtout le codon 12 de l'exon 2 (80 % des cas), moins fréquemment le codon 13 de l'exon 2, et encore plus rarement le codon 61 de l'exon 3, un autre codon, ou les codons 12 et 13 simultanément. Elles sont retrouvées aussi bien dans la tumeur primitive que dans les métastases, avec une excellente corrélation. Ainsi, la recherche de mutations de *KRAS* est maintenant une étape préliminaire indispensable avant toute prescription d'anticorps anti-EGFR chez les malades atteints de CCR métastatique, comme l'a stipulé l'AMM en 2008.

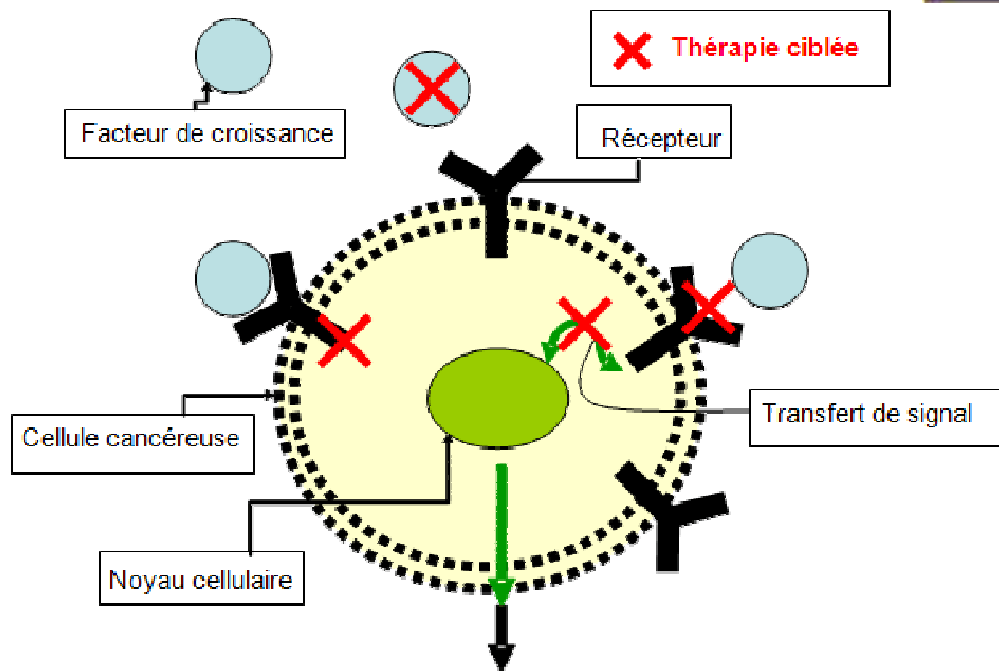


Figure 9 : Mécanisme d'action des anticorps anti-EGFR.

2.5) d'autres facteurs prédictifs de réponse aux anti-EGFR :

Cinquante pour cent des malades dont le cancer ne présente pas de mutation de KRAS ne répondent pas aux anticorps anti-EGFR. Dans ce contexte, les mutations activatrices de BRAF, de PI3KCA, ainsi que la perte d'activité d'un inhibiteur de PI3KCA, PTEN (PTEN est un gène suppresseur de tumeur qui régule négativement la voie de signalisation intracellulaire PI3K/Akt.), pourraient constituer d'autres biomarqueurs de résistance [95]. Les mutations de BRAF, mutuellement exclusives de celles de KRAS, constituent un facteur de résistance aux anticorps anti-EGFR obéissant aux mêmes mécanismes que les mutations de KRAS. Il existe un point chaud de mutation au niveau du quinzième exon du gène BRAF, représentant plus de 90 % des mutations observées, responsable du changement d'une valine en acide glutamique en position 600 (V600E), du fait de la transversion T1799A. La région mutée correspond au domaine kinase de la protéine, qui est une sérine/thréonine kinase. La mutation de BRAF, outre sa valeur prédictive négative, représente également un facteur de très mauvais pronostic [95]. La recherche d'une perte d'expression de PTEN, mise en évidence en immunohistochimie, n'est pas applicable en routine à l'heure actuelle, en raison de difficultés de standardisation [95].

2.6) Instabilité des microsatellites et pronostic des cancers du côlon :

La présence ou non d'un statut MSI semble avoir un intérêt pronostic dans le traitement des cancers du côlon. Une méta-analyse récente a démontré l'importance du profil moléculaire des tumeurs coliques pour la survie des patients, les tumeurs avec MSI ayant un meilleur pronostic et une plus grande résistance au FU [96].

La majorité des études tendent néanmoins à montrer l'intérêt de la recherche de MSI pour établir un pronostic et son utilité pour l'adaptation aux traitements des cancers du côlon.

L'accumulation de mutations dans d'autres gènes pourrait conduire à l'expression aberrante de protéines membranaires, à leur tour responsables de l'intense infiltration

lymphocytaire tumorale (de type Crohn-like), souvent observé dans les CCR MSI. Il n'a pas été observé de différence de survie entre les malades atteints d'un CCR MSI sporadique et ceux atteints d'un CCR MSI héréditaire [97].

De plus, ces malades semblent répondre différemment aux chimiothérapies. Trois molécules de chimiothérapie ont fait la preuve de leur efficacité dans le CCR : il s'agit du 5-FU, avec ou sans levamisole, de l'oxaliplatine, et de l'irinotecan (ou CPT11). Le traitement adjuvant postopératoire par 5FU plus levamisole donné pendant six mois réduit la mortalité chez les malades atteints de CCR de stade III. L'ajout de l'oxaliplatine au 5FU (FOLFOX) améliore le traitement adjuvant des CCR de stade III en réduisant le risque de récurrence et en améliorant la survie globale [98].

Les données actuellement disponibles sur le phénotype MSI montrent qu'il semble être associé à l'absence de bénéfice d'une chimiothérapie adjuvante par 5FU/acide folinique, voire à un effet délétère de cette dernière [69].

Toutefois, certains centres préconisent d'arrêter toute chimiothérapie chez les malades ayant un CCR de phénotype MSI si l'oxaliplatine doit être stoppé.

3) L'intérêt des techniques de la biologie moléculaire dans le diagnostic du CCR :

Les techniques de la biologie moléculaires ont permis, en moins de 30 ans d'établir la carte d'à peu près tous les gènes humains. L'automatisation des techniques, en particulier pour l'amplification de l'ADN et le séquençage, permet une accélération constante du rythme des recherches.

La réaction de polymérisation en chaîne est une technique extrêmement puissante pour l'amplification d'ADN. La PCR a de nombreuses variantes, comme la (RT-PCR) et plus récemment la PCR en temps réel permet des mesures quantitatives de molécules d'ADN ou

La biologie moléculaire a pris une place importante aussi en cancérologie, dans le cadre d'un diagnostic oncogénétique, qui est orienté par une analyse immunohistochimique en amont.

Elle contribue de ce fait à la médecine prédictive qui incite des individus reconnus vulnérables à se protéger plus que d'autres vis-à-vis de facteurs cancérogènes. [102]

3.1 L'amplification d'ADN par PCR :

➤ Principe :

Cette méthode de Biologie Moléculaire a été mise au point en 1985 par Kary Mullis. Aujourd'hui, ce procédé révolutionnaire couplé à l'utilisation d'une ADN polymérase thermorésistante (Taq polymérase) permet d'obtenir, sans clonage, une amplification considérable d'un fragment donné d'ADN avec un gain important en temps. .

La PCR est une technique basée sur une répétition de cycles de transition de température. chaque cycle contient trois étapes décrites ci-dessous :

- **Etape 1 : La dénaturation** : tous les doubles brins d'ADN sont dissociés par la chaleur en brins monocaténaux.
- **Etape 2 : L'hybridation** : fixation des amorces sur les séquences complémentaires. Un refroidissement de l'ADN en présence d'un large excès des deux oligonucléotides permet leur hybridation spécifique avec les séquences d'ADN complémentaires.

- **Etape 3 : L'élongation** : synthèse des brins à partir des amorces hybridés par la Taq polymérase: le mélange préassocié est ensuite incubé en présence de l'ADN polymérase et des quatre désoxyribonucléosides triphosphates de sorte que les régions de l'ADN en aval des amorces soient sélectivement synthétisées.

Il faut 20 à 30 cycles de cette réaction pour qu'il y ait une réelle amplification de l'ADN. Chaque cycle double la quantité d'ADN synthétisée au cours du cycle précédent. Un seul cycle prend environ 5 min, permettant l'obtention en quelques heures le « clonage acellulaire » d'un fragment d'ADN grâce à un système automatisé alors qu'il faut plusieurs jours avec les techniques standard de clonage.

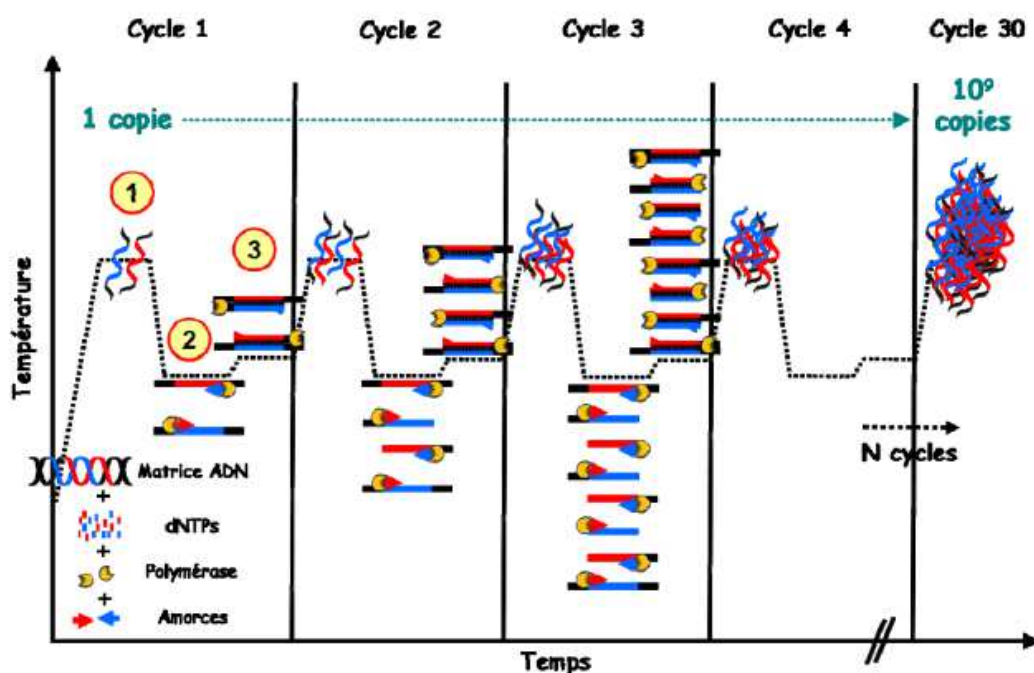


Figure 10 : schéma général d'une réaction de polymérisation en chaîne

- ① : La phase de dénaturation
- ② : la phase d'hybridation
- ③ : la phase d'élongation