

Le rôle dans la tumorigenèse des lésions de l'ADN associées à la réplication

Massimo Lopes, UZH

Achim Weber, USZ

Résumé

L'hyperprolifération est intrinsèquement associée aux stades précoces de la tumorigenèse. Par ailleurs, les divisions cellulaires accélérées sont liées à une homéostasie perturbée, particulièrement dans le contexte de lésions tissulaires persistantes et d'apoptose. Sous ces conditions favorables au cancer et fréquemment associées à l'activation d'oncogènes, les cellules sont forcées d'accroître le taux de réplication de l'ADN, augmentant ainsi la probabilité d'apparition de dégâts à l'ADN associés à la réplication.

Cette séquence d'événements est observée dans les maladies chroniques du foie et le carcinome hépatocellulaire subséquent. Elle a été modélisée et étudiée de manière détaillée dans le laboratoire du Prof. Weber. Un ensemble de techniques permettant d'examiner le stress durant la réplication sous conditions favorables au cancer a été optimisé par le groupe du Prof. Lopes. Il s'agit notamment d'approches spécialisées permettant l'étude à l'échelle de la molécule unique des intermédiaires de la réplication. Cette plateforme technologique comprend entre autres des modèles de cultures cellulaires des stades précoces de la tumorigenèse et de cellules souches embryonnaires hyperproliférantes. Elle a permis de détecter des changements globaux au niveau de la progression de la fourche de réplication et de l'architecture dans diverses conditions de stress réplicatif.

Nous prévoyons maintenant d'unir nos forces et d'appliquer ces méthodes puissantes à différents modèles murins de maladie chronique du foie et de carcinome hépatocellulaire. Nos recherches incluront également des hépatectomies murines partielles. D'autre part, des expériences « preuve de concept » seront réalisées à l'aide d'échantillons humains de maladie chronique du foie et de régénération aiguë après chirurgie hépatique auxquels a accès le groupe du Prof. Weber. Nous visons à déterminer si les lésions de l'ADN observées dans ces conditions sont accompagnées de signes spécifiques de stress réplicatif. Pour ce faire, nous appliquerons des protocoles optimisés permettant d'isoler à partir de tissus pertinents des cellules métaboliquement actives individuelles. Nous utiliserons également des protocoles de coloration couplés au tri cellulaire activé par fluorescence (FACS) et à la microscopie à fluorescence. Par ailleurs, nous prévoyons de recourir à la technique du « DNA fiber spreading » et la microscopie électronique pour suivre directement la progression et l'architecture de fourches de réplication individuelles. Nous serons ainsi en état de fournir des renseignements mécanistiques au sujet du stress réplicatif associé à ces conditions. Nous exploiterons également la technique du séquençage total du génome pour détecter des configurations spécifiques de mutations s'accumulant dans les cellules hyperproliférantes. Ces configurations sont éventuellement signes de mécanismes spécifiques à l'instabilité génomique et à la tumorigenèse hépatique. Enfin, à la lumière de rapports récents et de résultats non publiés issus de nos deux laboratoires, nous chercherons à déterminer si Mcl-1, une molécule spécifique impliquée dans la tumorigenèse

hépatique, joue un rôle direct dans la réponse au stress réplicatif, allant au-delà de son rôle bien connu dans l'inhibition de l'apoptose et dans l'hyperprolifération qui lui est associée.

Nous sommes convaincus qu'en appliquant des méthodes spécialisées issues de la recherche fondamentale à des modèles murins cliniquement intéressants, nos études conjointes feront la lumière sur les mécanismes essentiels liés au stress réplicatif durant les stades précoces de la tumorigenèse.