



# ROLE DE LA TRIMETHYLATION DE LA LYSINE 27 DE L'HISTONE H3 (H3K27me3) DANS LE CANCER DE LA PROSTATE: RELATION AVEC LES PARAMETRES CLINICOPATHOLOGIQUES

**Marjolaine NGOLLO**

**24/01/2014**

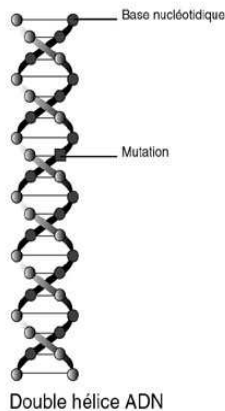
**L. GUY** (Directeur de thèse)

**D. BERNARD-GALLON** (CBRV)



# Cancer de la Prostate

- **1<sup>er</sup> cancer** chez l'homme de par son incidence: 53465 nouveaux cas en 2012 en France
- **2 facteurs génétiques:**

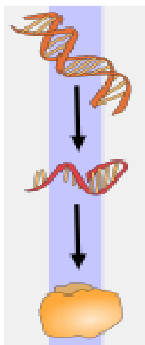


## Mutation de l'ADN

Mutations sur des gènes de prédispositions identifiés: *BRCA1*, *BRCA2*, *RNASEL*, *HPC2*, *MSR1*, *AR*, *GSTP1*...

## Modifications épigénétiques

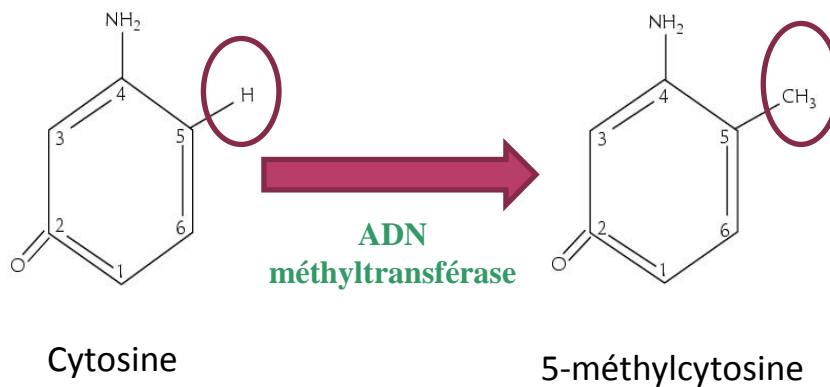
Variation de l'expression de plusieurs gènes: *GSTP1*, *RASSF1A*, *AR*, *BRCA1*...



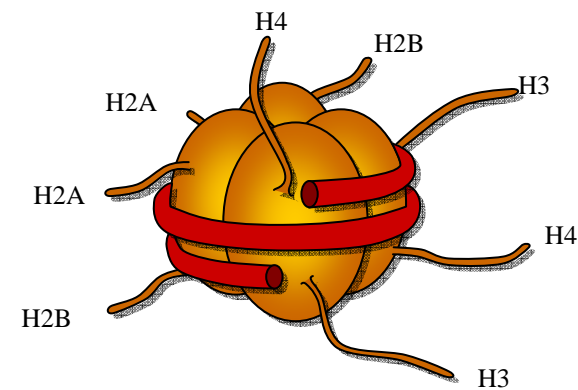
# Epigénétique

Mécanismes moléculaires responsables des changements d'expression d'un gène sans modifier la séquence nucléotidique de l'ADN et avec un caractère réversible.

## Méthylation des cytosines de l'ADN



## Modifications post-traductionnelles des histones



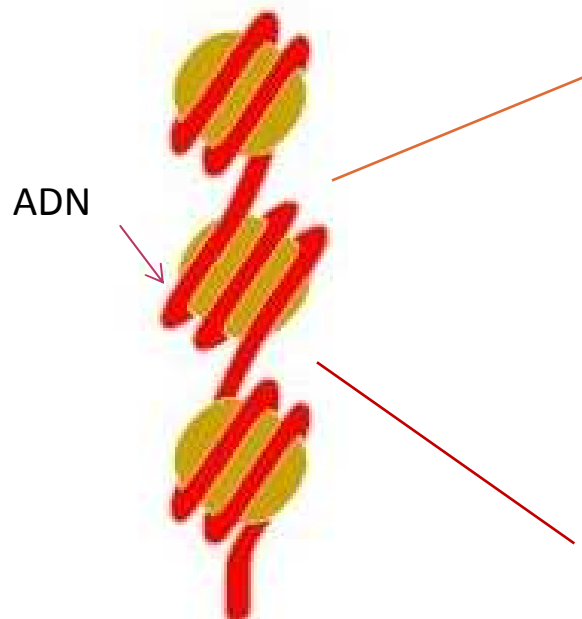
Deux mécanismes sont interdépendants mais étroitement liés

## MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DES HISTONES

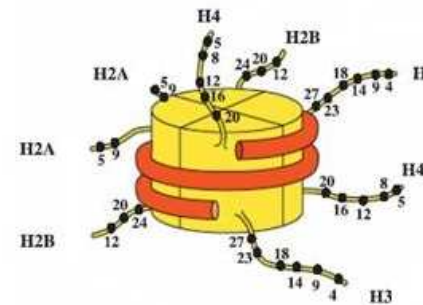
**Histones**= Protéines basiques associées à l'ADN pour former le nucléosome

**Nucléosome**= Unité de base de la chromatine

**Chromatine**= la forme sous laquelle se présente l'ADN dans le noyau



**Chromatine**



**Nucléosome**

**Acétylation**

**METHYLATION**

**Phosphorylation**

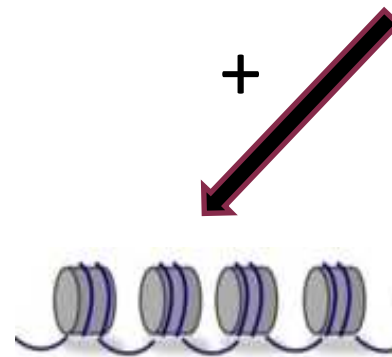
**Ubiquitination**

# LA METHYLATION DES HISTONES

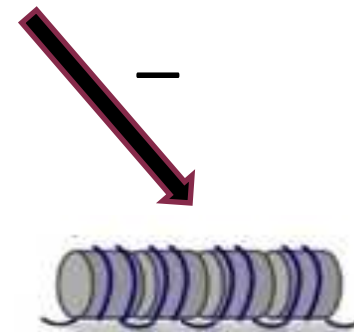
- S'effectue sur les **Lysine** (K) ou **Arginine** (R)
- Ajout d'un CH<sub>3</sub> (**Mono**) ou de 2 (**di**) ou de 3 (**tri**) méthylation



- Catalysée par des **Histones méthyltransférases**

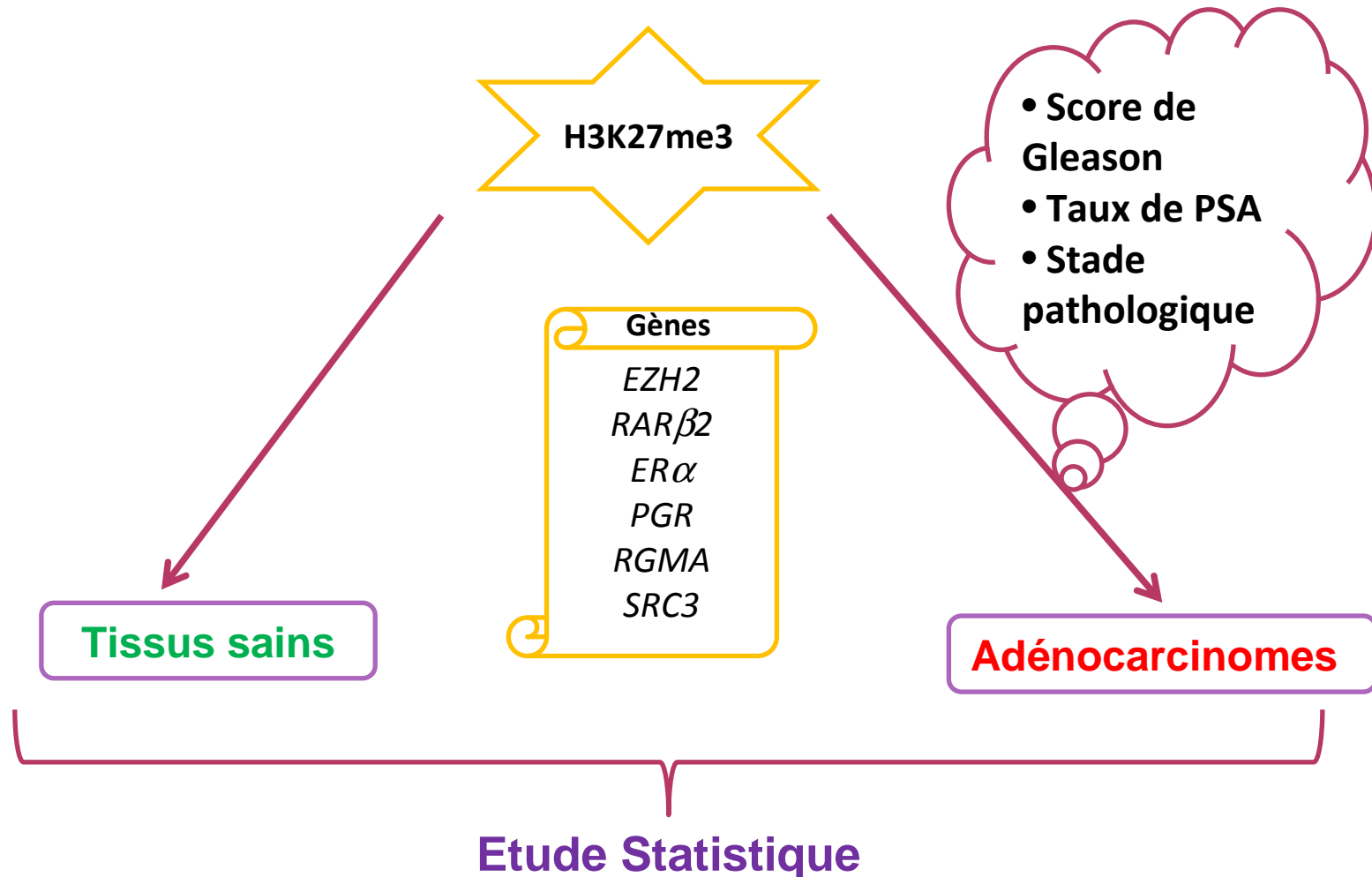


Activation de la  
transcription



Répression de  
la transcription

**Etudier la distribution des marques H3K27me3 (triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3) sur les gènes *EZH2*, *RARβ2*, *ERα*, *PGR*, *RGMA* et *SRC3* impliqués dans le cancer de la prostate en relation avec les paramètres clinico-pathologiques**





## Gènes étudiés

- **EZH2** (Enhancer of Zeste homolog 2): code pour une histone méthyltransférase, catalyse la triméthylation de H3K27.
- **RAR $\beta$ 2** (Retinoic Acid Receptor 2): Impliqué dans le développement, la différenciation cellulaire et l'apoptose.
- **ER $\alpha$**  (Estrogen Receptor): Impliqué dans la reproduction, rôle dans la régulation de la transcription des gènes.
- **PGR** (Progesterone Receptor): Impliqué dans le développement et la reproduction, rôle dans la régulation de la transcription des gènes.
- **RGMA** (Repulsive Guidance Molecule A): Rôle de suppresseur de tumeur dans le cancer de la prostate.
- **AR** (Androgen Receptor): Rôle dans la différenciation, la croissance et le développement de la prostate
- **SRC3** (Steroid Receptor Coactivator 3): Coactivateur du récepteur aux androgènes, code pour une acétyltransférase.

# PROTOCOLE D'ETUDE

## ☐ Patients

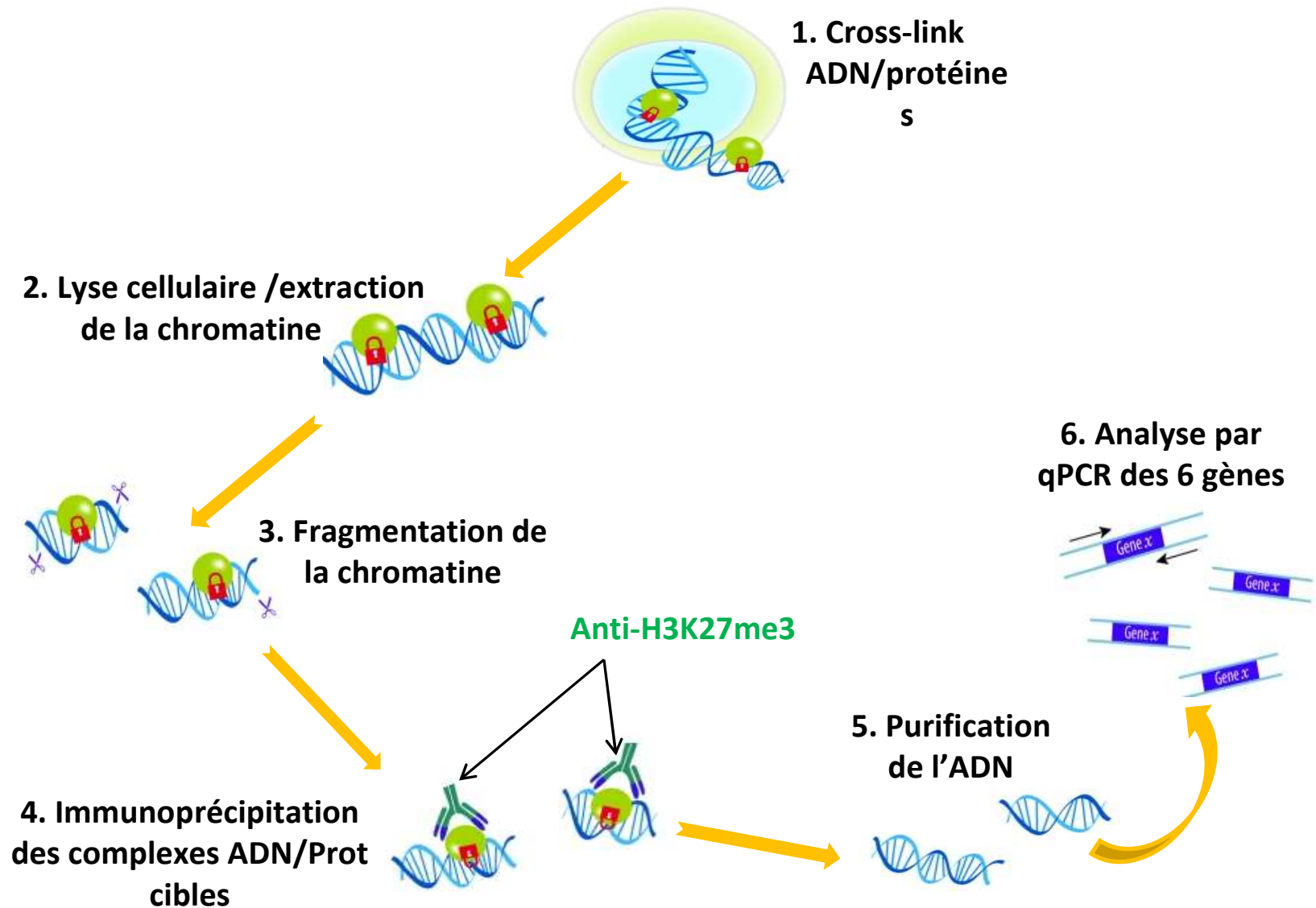
CASES	T	N
Total cases (n=64)	<b>66</b>	<b>71</b>
<b>Age at diagnosis (years)</b>		
<49	0	1
50-59	8	20
60-69	28	38
>70	30	12
<b>PSA baseline (ng/mL)</b>		
<4	1	6
4-10	28	48
10-20	17	9
>20	20	2
<b>Pathological stage</b>		
T1c	30	-
T2a	9	-
T2b	16	-
T2c	3	-
T3	8	-
<b>Gleason Score</b>		
≤7	38	-
>7	28	-

T : Tissu tumoral ; N : Tissu normal; PSA : Prostate-specific antigen

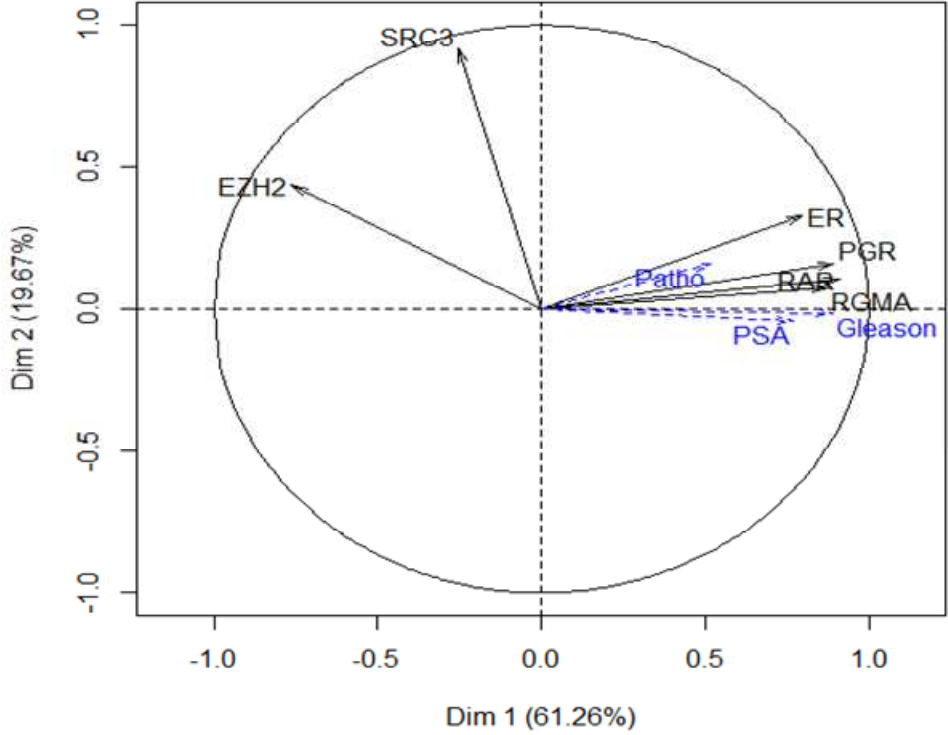


# PROTOCOLE D'ETUDE

## ☐ Méthodes: Immunoprécipitation de la chromatine (ChIP)/qPCR



**Il existe une corrélation globale entre la proportion de marques H3K27me3 sur les gènes *RARβ2*, *ERα*, *PGR* et *RGMA* avec le score de Gleason, le taux de PSA et le stade pathologique**



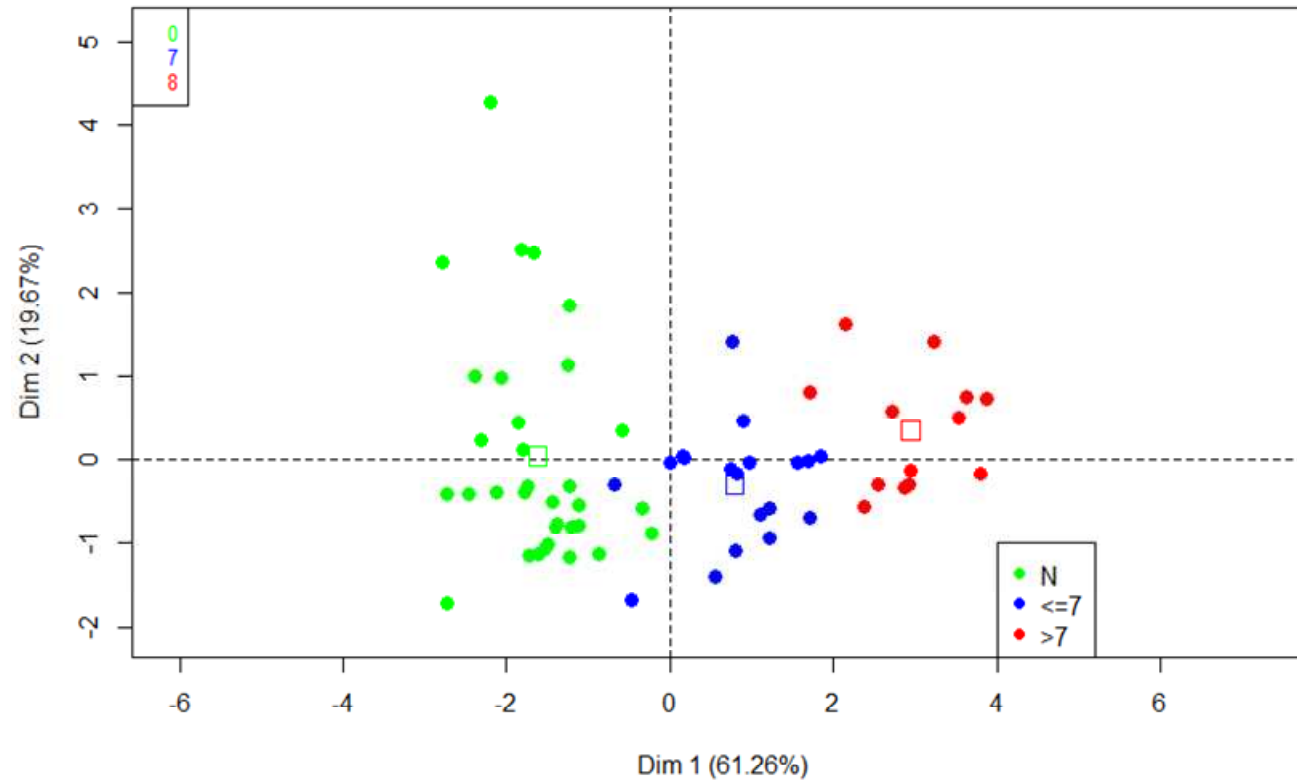
H3K27me3 ↑ sur *RARβ2*, *ERα*, *PGR* et *RGMA*

H3K27me3 ↓ sur *EZH2*

Score de Gleason  
Stade pathologique  
PSA

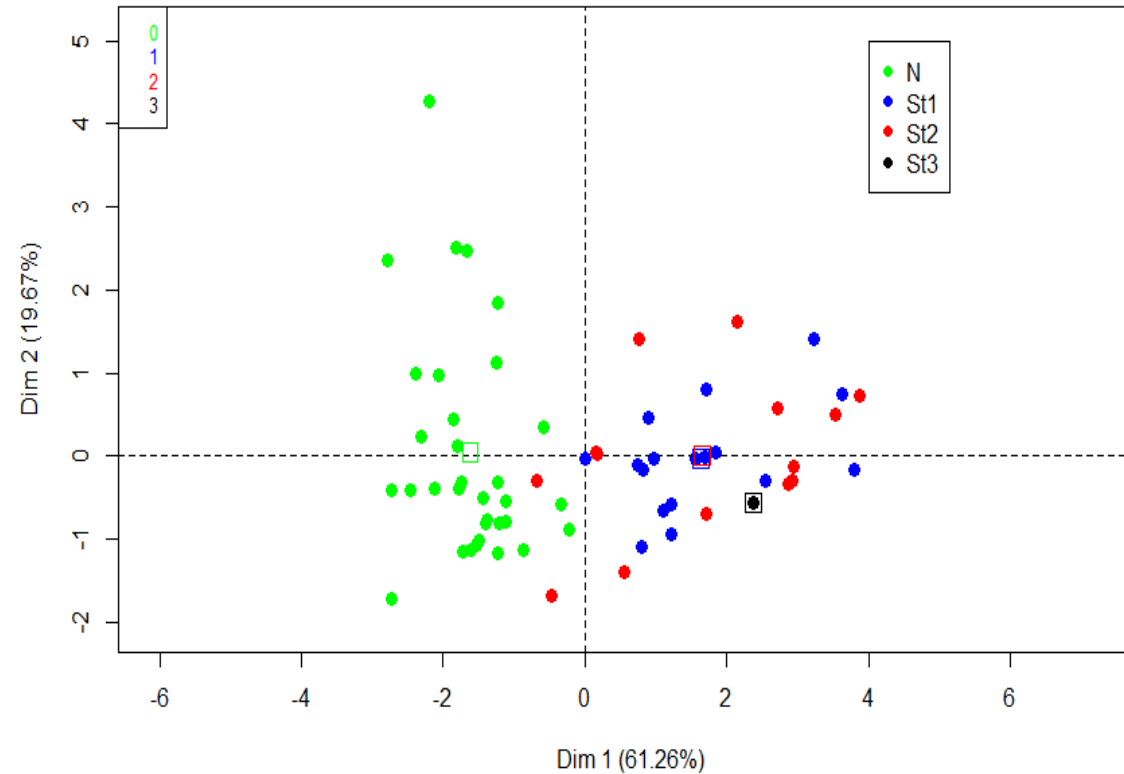


**Score de Gleason:** correspond à la gradation histologique de l'agressivité de la tumeur



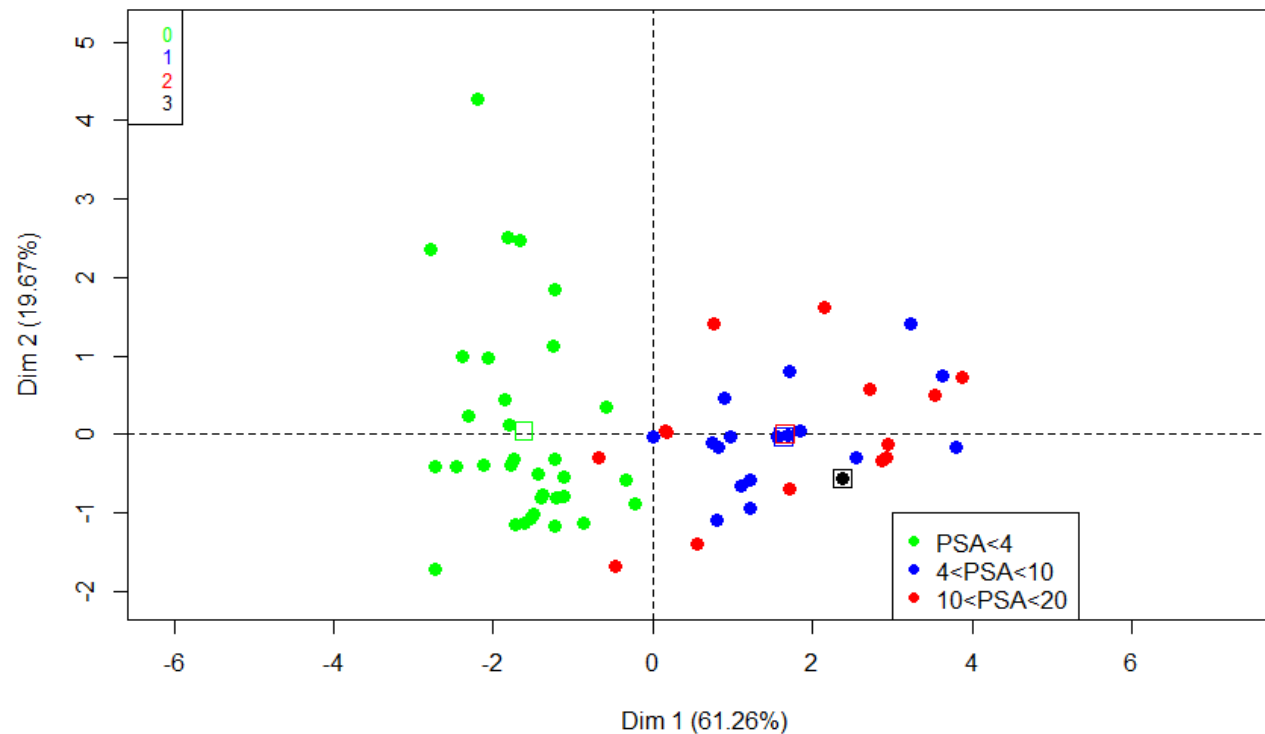
H3K27me3 → discrimine les différents groupes de patients selon le score de Gleason

**Stade pathologique:** Dépend de l'évolution et de la propagation de la maladie (T1 à T4)



H3K27me3 → ne peut distinguer les différents groupes de patients en tenant en compte le paramètre "stade pathologique"

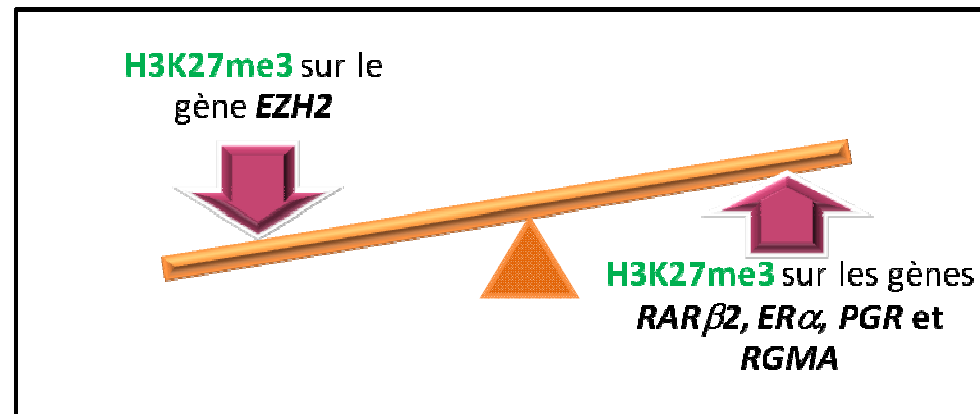
**Taux de PSA (Antigène prostatique spécifique):** Enzyme spécifique de la prostate, marqueur de l'activité de la prostate



H3K27me3 → ne peut distinguer les différents groupes de patients en tenant en compte **uniquement** le paramètre "Taux de PSA"

## CONCLUSION

Adénocarcinome  
de la prostate



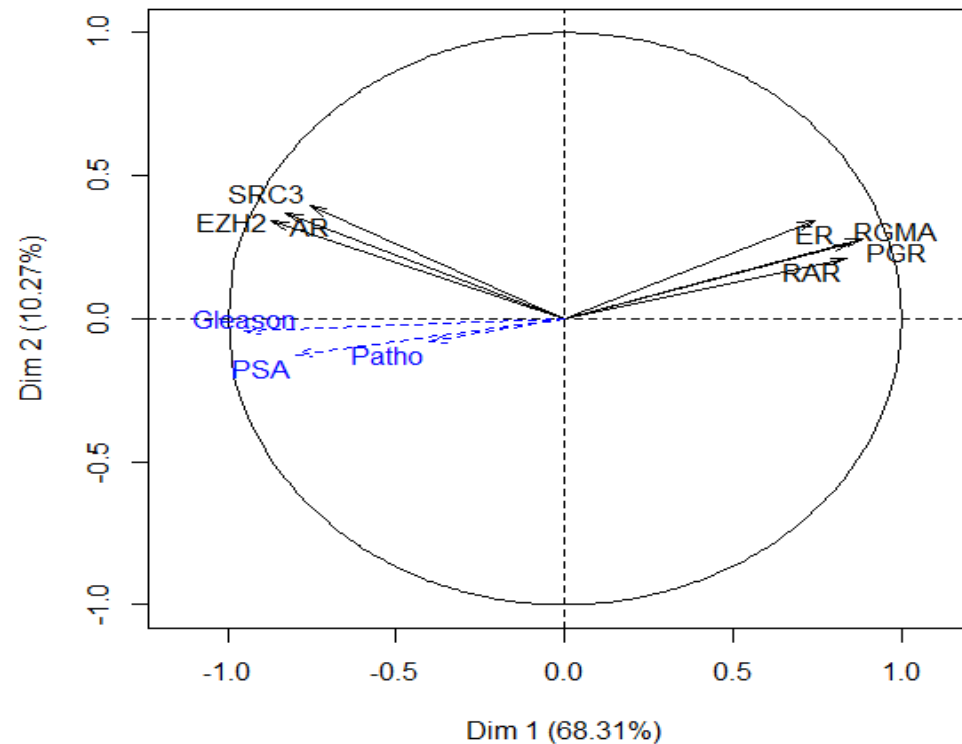
Corrélation positive avec les paramètres  
clinicopathologiques

=

Marqueur de l'agressivité du cancer de la prostate

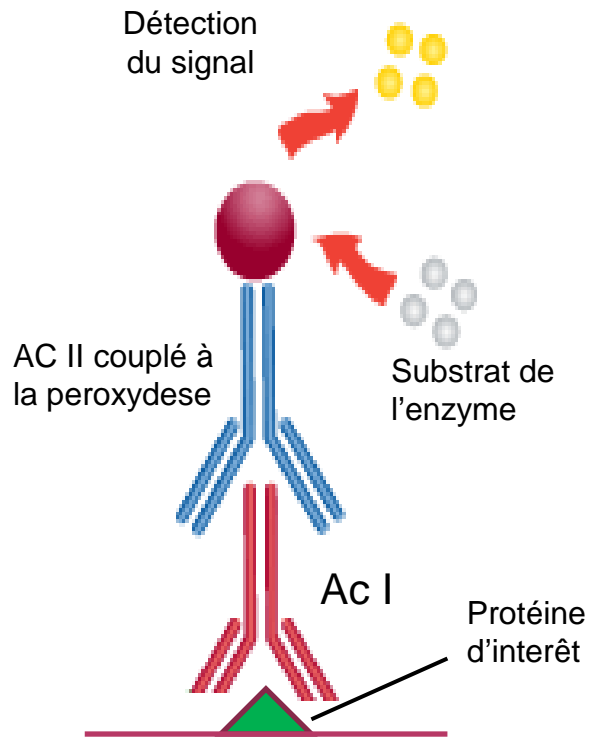


Corrélation entre l'abondance des marques répressives H3K27me3 et le niveau d'expression des gènes *RARβ2*, *ERα*, *PGR*, *RGMA*, *SRC3* et *AR* par ChIP-qPCR.

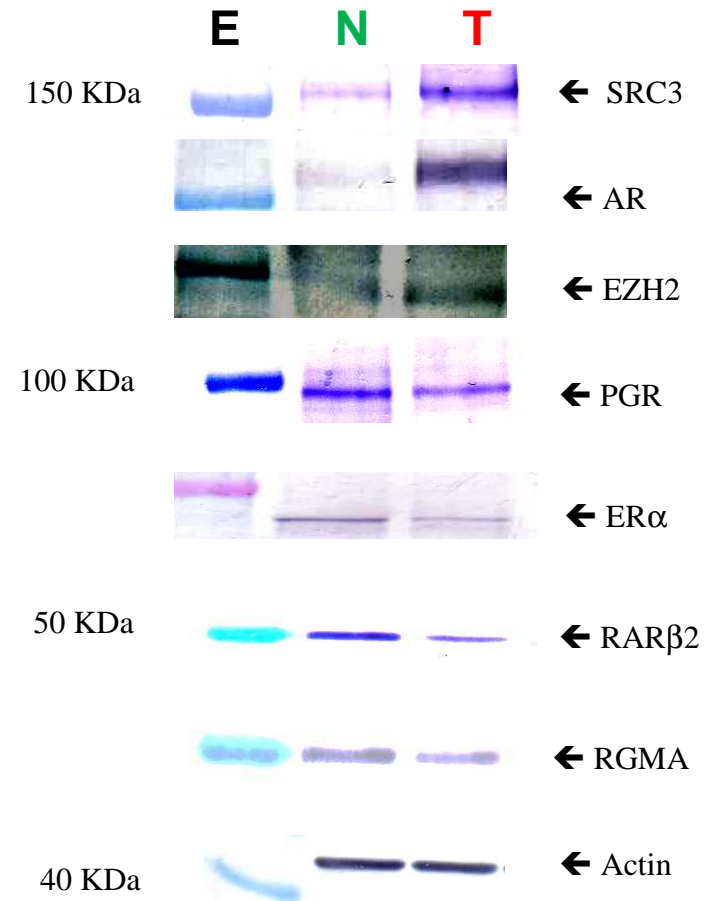


- Les gènes qui ont une forte proportion de marques H3K27me3 sont sous-exprimés
- Les gènes EZH2, SRC3 et AR sont surexprimés
- Cette variation d'expression corrèle avec le score de Gleason, taux de PSA et le stade pathologique

**Corrélation entre l'abondance des marques répressives H3K27me3 et le niveau d'expression des gènes *RARβ2*, *ERα*, *PGR*, *RGMA*, *SRC3* et *AR*.**



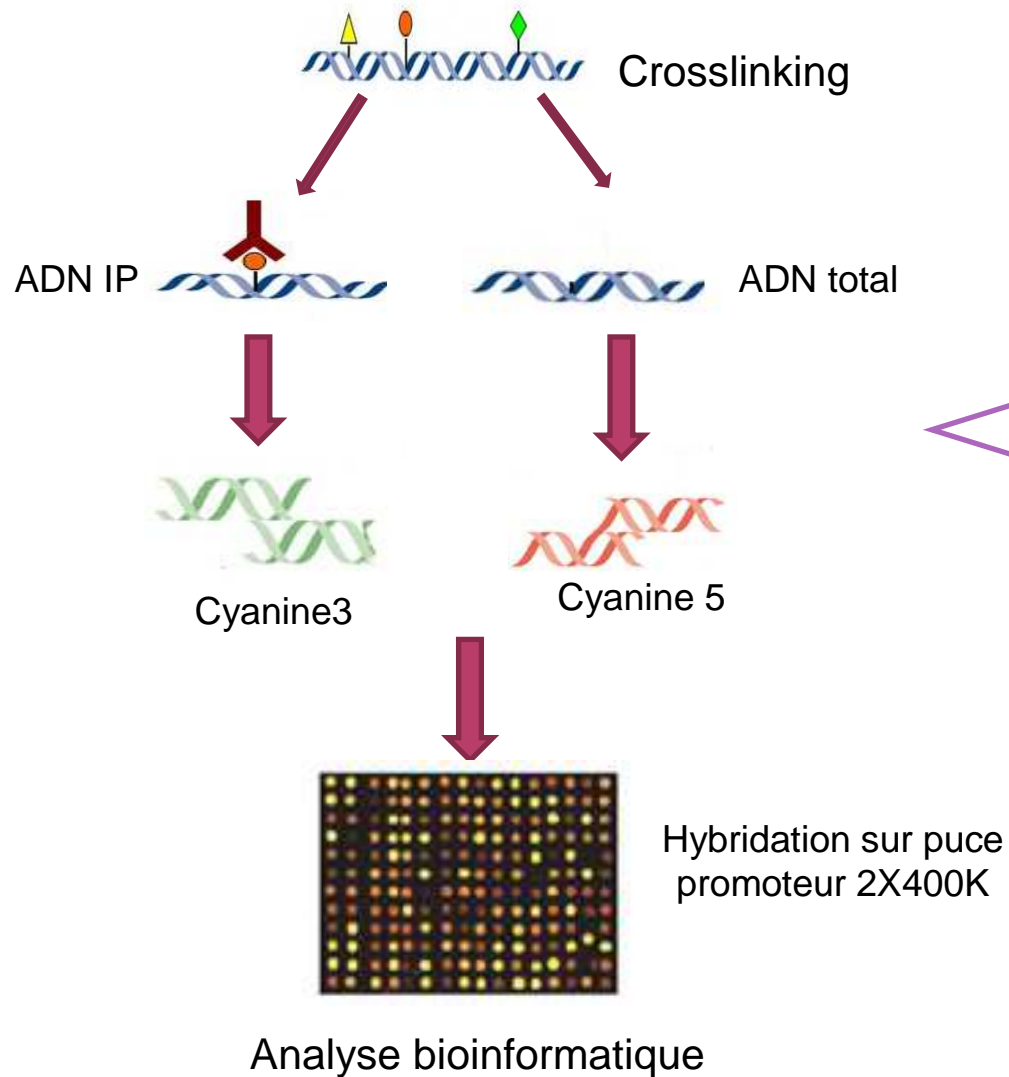
Western blot



E: échelle; N: normal; T: tumeur

## PERSPECTIVES: Analyse globale à l'échelle du génome

### Technique: ChIP-chip



- Identifier et caractériser les fragments d'ADN recueillis lors de la ChIP

- localiser sur le génome et étudier leurs séquences

- Mettre en évidence de nouveau gènes régulés par ces marques épigénétiques.



**MERCI DE VOTRE ATTENTION**

---