

De la cytogénétique à la cytogénomique oncologique

Alain Bernheim
Anne-Marie
Vagner-Capodano
Jérôme Couturier
et le Groupe Français
de Cytogénétique
Oncologique

La pertinence de l'hypothèse de Boveri selon laquelle le cancer serait une maladie génétique, ou plutôt génomique, de la cellule, a été amplement démontrée par la cytogénétique des cellules malignes au cours de ces trente dernières années. La grande majorité des tumeurs présentent, en effet, des anomalies génomiques acquises et monoclonales. Le premier type est la formation de gènes de fusion dont l'exemple classique est celui de la fusion FLI1-EWS consécutive à la translocation $t(11;22)(q24;q12)$ de la tumeur d'Ewing. Le second type est la perte d'information génétique, que ce soit par délétion, translocation déséquilibrée, ou tout autre mécanisme entraînant une perte d'hétérozygotie ou de fonction. Fréquentes, ces pertes impliquent en général des gènes suppresseurs de tumeurs. Le troisième type, très commun également, est le gain de matériel génétique, allant de simples sur-représentations de segments chromosomiques, de signification moléculaire encore mal connue, à des amplifications, dont certaines ont une valeur pronostique péjorative. Ces amplifications touchent de nombreux oncogènes, qui semblent en général non altérés, et dont l'expression serait ainsi augmentée par effet de dose. Ces anomalies chromosomiques peuvent être utilisées pour le diagnostic, en raison de la spécificité de certaines d'entre elles pour un type de tumeur donné, mais aussi, dans un nombre encore limité de types tumoraux, pour l'évaluation de leur pronostic. Souvent nombreuses et complexes, les altérations du génome dans les tumeurs solides doivent continuer à faire l'objet d'un inventaire le plus exhaustif possible, essentiel pour notre compréhension des maladies cancéreuses et de leur prise en charge thérapeutique.

ADRESSES

A. Bernheim: Laboratoire de génomique cellulaire des cancers, Cnrs UMR 1599, Institut Gustave-Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France.
A.M. Vagner-Capodano: Laboratoire de cytogénétique oncologique, Hôpital d'adultes de la Timone, boulevard Jean-Moulin, 13385 Marseille Cedex 05, France.
J. Couturier: Unité de cytogénétique oncologique, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France.
Groupe Français de Cytogénétique Oncologique (GFCO): Ce groupe se réunit trois fois par ans et fait des études coopératives sur la cytogénétique des tumeurs. S'adresser à A. Bernheim pour tout contact.

L'ère moderne de la cytogénétique oncologique débute en 1960 avec la découverte, par Nowell et Hungerford, du chromosome Philadelphie, caractéristique de la leucémie myéloïde chronique, interprété comme

le résultat de la délétion d'un chromosome 22. La mise au point, en 1970, des techniques de *banding* chromosomique a permis ensuite l'établissement précis du caryotype, et un gain important de résolution de l'analyse chromosomique. Grâce à

ces progrès techniques, Rowley a pu montrer en 1973 que le chromosome Philadelphie résultait en fait d'une translocation réciproque 9-22, et non d'une délétion, démontrant ainsi qu'un remaniement apparemment équilibré pouvait être à l'origine d'un processus néoplasique. Par la spécificité des anomalies identifiées, l'approche cytogénétique s'est avérée extrêmement féconde dans l'établissement de la nosologie des leucémies, puis des lymphomes, et fait maintenant partie du bilan diagnostique des hémopathies. L'extension de l'analyse cytogénétique aux tumeurs solides s'est avérée beaucoup plus délicate en raison de la difficulté de leur mise en culture, de leur indice mitotique souvent faible, et, fréquemment, du nombre et de la complexité de leurs anomalies chromosomiques. Néanmoins, une meilleure maîtrise des conditions techniques a mené progressivement, et particulièrement à partir du début des années 1980, à l'identification de marqueurs chromosomiques spécifiques, tels que la perte d'un chromosome 22 dans les méningiomes et la translocation 11-22 des tumeurs d'Ewing. Ces découvertes ont marqué le début d'un développement rapide de la cytogénétique des tumeurs solides. Actuellement, plus d'une vingtaine de types tumoraux sont caractérisés par des remaniements récurrents, en constituant une véritable signature diagnostique. Les analyses moléculaires menées à partir de ces données ont abouti à l'identification des gènes impliqués dans les remaniements, et ont permis de proposer pour ces tumeurs des modèles fondamentaux de carcinogénèse. Les tumeurs présentent des anomalies génétiques, chromosomiques en particulier, acquises, et, en règle, clonales. Des anomalies clonales récurrentes sont même retrouvées dans certains types de tumeurs bénignes. Ces anomalies, au fur et à mesure de leur découverte, sont maintenant répertoriées dans des banques de données [1-3]. La carcinogénèse s'est avérée résulter d'un processus multi-étapes, parfois relativement simple, comme dans les sarcomes, souvent complexe, comme dans les carcinomes. Dans la majorité des sarcomes et dans une minorité de carcinomes, existent des anomalies

initiales très spécifiques, ayant ainsi une forte valeur diagnostique, et des anomalies additionnelles, moins spécifiques, mais néanmoins non aléatoires, témoins de la progression tumorale, dont certaines ont probablement une valeur pronostique. Les anomalies primaires mènent à des remaniements géniques ponctuels, tandis que les anomalies additionnelles aboutissent à des déséquilibres impliquant souvent de larges segments chromosomiques. On observe, dans les tumeurs solides, quatre types principaux d'anomalies: les translocations, les délétions, les sur-représentations et les amplifications. Nous ferons ici un état des acquis et des perspectives de la cytogénétique oncologique, plus en retenant des modèles tumoraux caractéristiques, qu'en donnant une présentation exhaustive des très nombreuses anomalies chromosomiques identifiées dans les tumeurs.

Des méthodes d'analyse du génome en évolution continue

Le génome est morcelé en chromosomes, organites complexes qui maintiennent leur intégrité tout au long du cycle cellulaire en dépit de modifications morphologiques et fonctionnelles, allant du classique chromosome métaphasique au domaine interphasique. Des outils complexes de génomique sont en cours de développement, mais la cytogénétique constitue déjà un moyen global d'exploration du génome, en l'absence de toute orientation diagnostique. Elle est fondée sur des principes déjà anciens, mais toujours actuels: cellules en mitose, choc hypotonique, bandes chromosomiques. Cependant, la mise au point, au début des années 1990, de la technique de FISH (hybridation *in situ* en fluorescence), puis de techniques dérivées, a fait exploser sa résolution et ses capacités d'analyse, puisque la totalité du génome peut désormais être explorée au kilobase près à l'aide de sondes fluorescentes (*m/s* 1997, n° 11, p. 1237). Cela la différencie de la biologie moléculaire classique, très puissante, mais qui ne peut s'intéresser qu'à une région d'ADN, à un ARN ou à une protéine déterminés.

Les techniques cytogénétiques classiques

L'obtention de cellules tumorales en cours de division, par culture en suspension ou en monocouche, est indispensable pour l'analyse caryotypique. Par des traitements adaptés des préparations de métaphases, on fait apparaître sur les chromosomes une alternance de bandes sombres et claires que l'on appelle soit bandes R, riches en séquences GC et en gènes, et de synthèse précoce pendant la phase S, soit bandes G, riches en AT, plus pauvres en gènes, et de synthèse tardive. Entre 300 et 500 bandes peuvent être couramment mises en évidence sur le caryotype haploïde. Les chromosomes sont appariés et ordonnés selon leur longueur et la topographie des bandes, spécifique d'une paire chromosomique donnée, caractérisant ainsi le caryotype. La nomenclature des bandes et la description des anomalies font l'objet d'une convention internationale [4]. Le génome haploïde humain est estimé à 3000 mégabases (Mb), et une bande chromosomique moyenne à une dizaine de Mb. La résolution de la technique cytogénétique classique empêche évidemment a priori d'envisager la détection d'anomalies géniques. Toutefois, la mise en évidence de remaniements intergéniques, conséquences de déplacements de segments chromosomiques détectables, translocations ou inversions, a montré que l'approche morphologique était un outil puissant pour orienter la recherche et le clonage de gènes impliqués dans les tumeurs. La cytogénétique morphologique restera ainsi probablement irremplaçable, du moins dans les prochaines années, du fait de sa vision globale du génome et de sa capacité à détecter des remaniements de structure non encore identifiés.

Des outils récents performants

• L'hybridation *in situ* en fluorescence

Son principe est de visualiser *in situ*, sur les chromosomes ou les noyaux, après dénaturation thermique, la

réassociation moléculaire ADN-ADN d'une sonde génique ou anonyme spécifique, à sa cible chromosomique (*m/s* 1997, n° 11, p. 1294). Un hapène (biotine, digoxigénine) ou un fluorochrome (fluorescéine, Texas red, cyanine) est lié de façon covalente par un bras de 11 à 16 atomes de carbone à un nucléotide. Les nucléotides ainsi marqués peuvent être incorporés efficacement par voie enzymatique (*nick-translation*, *random priming*, PCR), pour le marquage de sondes d'ADN. Ces sondes « froides » ont des propriétés de dénaturation et de réassociation quasi similaires à celles des polynucléotides radioactifs. Après lavage et détection immunochimique éventuelle (dans le cas d'un marquage par un hapène), on obtient un signal fluorescent spécifique de la sonde sur mitoses ou sur noyaux. Les avantages des sondes non radioactives fluorescentes (stabilité, résolution, rapidité de détection, marqueurs de multiples couleurs...), ouvrant la possibilité d'une cytogénétique moléculaire, y compris sur noyaux interphasiques sur coupes histologiques, expliquent le développement rapide que connaît la FISH. La technique a beaucoup bénéficié des progrès de l'imagerie microscopique numérisée. Adaptée à la détection de séquences uniques (cosmides, PAC, YAC) avec une efficacité de plus de 90 % des cibles, la technique de FISH s'est montrée très per-

formante, même dans l'utilisation de sondes complexes. Ainsi, les peintures chromosomiques, totales ou partielles, obtenues après tri de chromosomes ou microdissection, sont des cocktails de séquences formant des sondes spécifiques de chromosomes ou de régions chromosomiques. Disponibles commercialement en plusieurs couleurs, voire en 24 couleurs différentes visibles simultanément (SKY, *multifish*) [5, 6] (*figure 1*), ces réactifs bouleversent la cytogénétique, car des remaniements variés précédemment passés inaperçus sont désormais détectables.

• L'hybridation génomique comparative (CGH)

La CGH [7, 8] consiste à hybrider ensemble un mélange équimoléculaire d'ADN tumoral marqué par la fluorescéine (vert) et d'ADN normal marqué par la rhodamine (rouge), en présence d'ADN Cot 1 (non marqué) comme compétiteur des séquences répétitives, sur des chromosomes humains normaux, véritables micromatrices naturelles. Les images en fluorescence sont saisies par un système d'imagerie numérisée qui permet de classer les chromosomes et d'établir des profils du rapport des fluorescences vertes/rouges le long de ces derniers (*figure 2*). Un rapport vert/rouge équilibré donne une couleur ocre. La couleur rouge

d'un segment de chromosome traduit un déficit de l'ADN tumoral, donc une perte de cette région chromosomique ; un segment de chromosome coloré en vert signe l'excès de séquences de cette région, donc une sur-représentation ; une intense bande verte signe l'amplification de l'ADN tumoral de cette région. La technique est ainsi particulièrement adaptée à la détection des anomalies quantitatives du génome tumoral. La résolution reste un facteur limitant de la technique, car une perte ou un gain ne peuvent être visible que s'ils dépassent plusieurs mégabases. L'ADN peut être préparé à partir de matériel frais, congelé, et même de coupes en paraffine (convenablement fixées). Cela permet une éventuelle microdissection des seules zones tumorales et aussi de travailler à partir de matériel archivé.

• Les fibres d'ADN

Afin d'augmenter la résolution de l'analyse, l'ADN nucléaire ou chromosomique peut être déspiralisé sous forme de fibres, après étalement par des techniques variées (halo, peignage) (*m/s* n° 11, vol. 13, p. 1299). Ces fibres forment d'excellentes cibles pour la FISH [9] (*figure 3*). Avec de telles techniques, on peut atteindre au microscope optique une résolution de 1 à 2 kb, ce qui permet de caractériser des remaniements

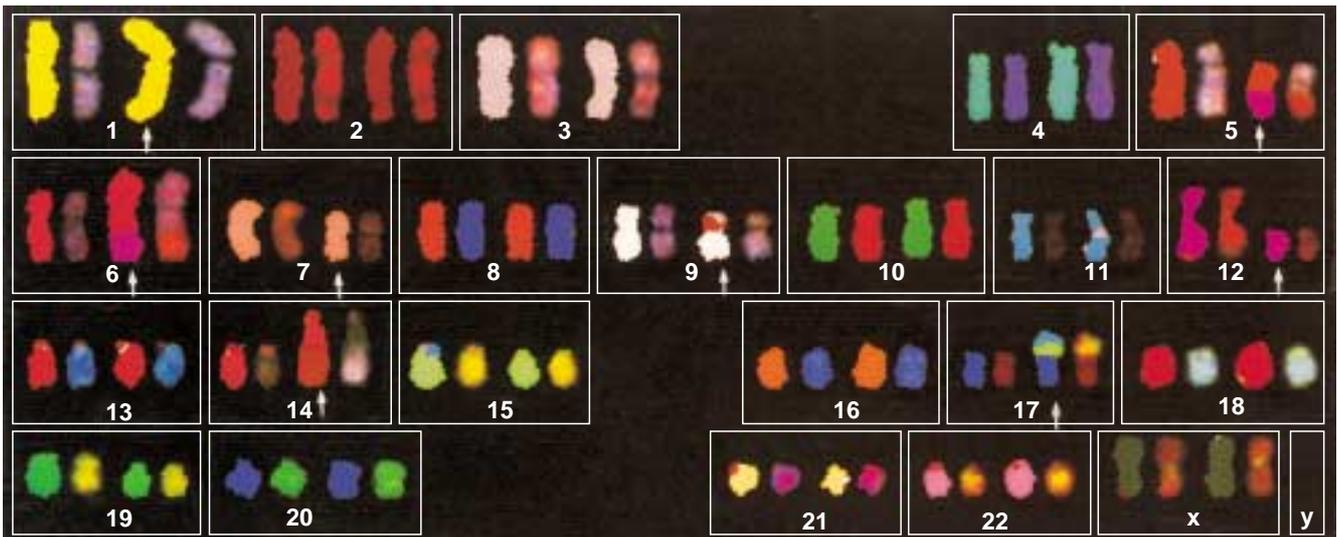


Figure 1. **Caryotype spectral d'une tumeur complexe.** À chaque paire chromosomique normale correspond une couleur déterminée. À gauche, le chromosome en pseudocouleur, à droite le chromosome en fluorescence réelle. Les remaniements sont visualisés par la juxtaposition de segments de couleurs différentes (flèches). (D'après [6].)

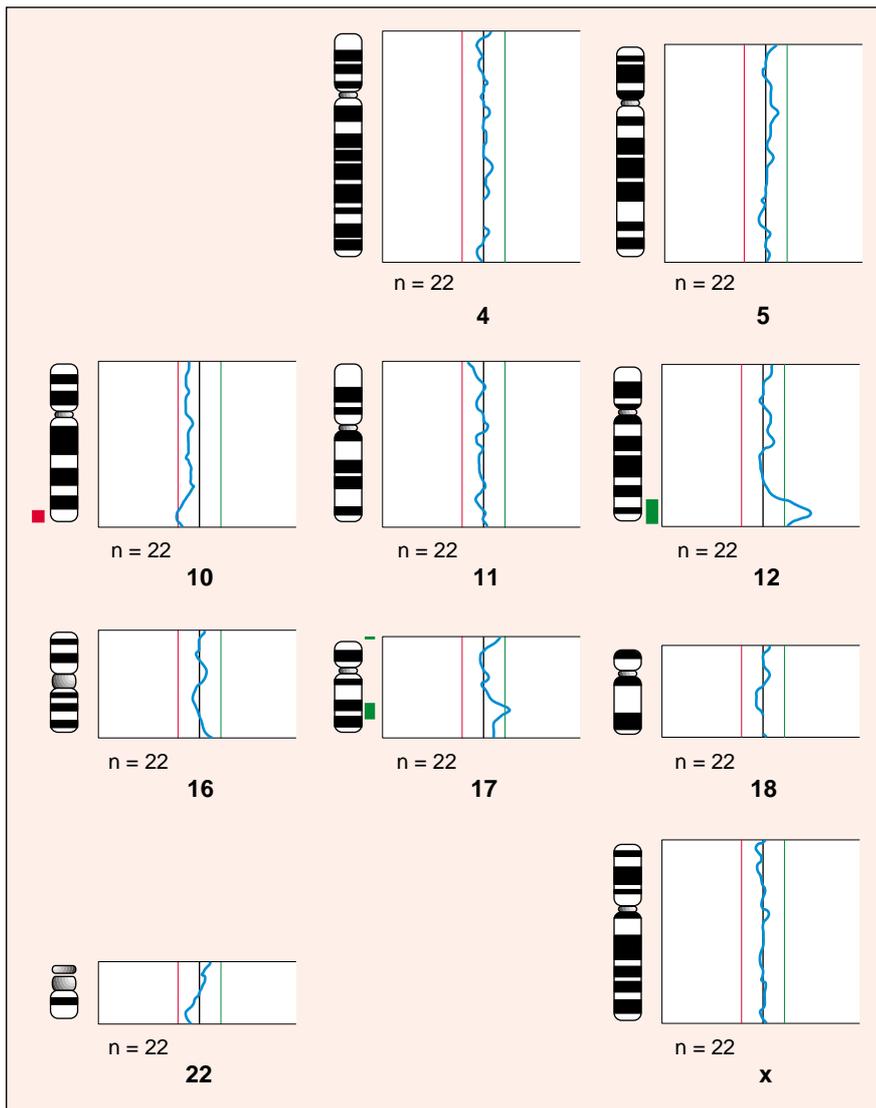


Figure 2. **Extrait des profils de CGH d'un rhabdomyosarcome.** Pour chaque chromosome, la courbe représente le rapport entre la fluorescence de l'ADN tumoral et celle de l'ADN normal. Les régions chromosomiques sur-représentées dans l'ADN tumoral sont indiquées par un décalage à droite, par rapport à l'axe, les régions délétées, par un décalage à gauche. Il existe dans cette tumeur, qui était tétraploïde, une perte d'un chromosome 10, et une amplification de la région distale du chromosome 12, liée à la présence de chromosomes double minutes. Une région du bras long du 17 est, en outre, sur-représentée.



Figure 3. **Fibre d'ADN peigné provenant d'une tumeur papillaire du rein xénogreffée (RCC 47, AF Goguel).** Elle est révélée par FISH avec le BAC H-RG2523B13 révélant l'oncogène MET en vert entouré de cosmides révélant les régions 5' et 3' en rouge (A. Bensimon).

avec une précision voisine de celle du *Southern blot*.

A plus long terme, les « puces » à ADN vont permettre d'analyser le génome [10] et la transcription d'un point de vue quantitatif (*m/s* 1997, n° 11, p. 1317). Les anomalies qui seront révélées seront à interpréter en fonction des autres caractéristiques génomiques, sachant que les remaniements de structure responsables de ces anomalies quantitatives ne seront pas détectés par les techniques envisagées actuellement.

Des modèles de carcinogénèse

Les tumeurs à gènes de fusion

Dans ces tumeurs, sont observées des translocations apparemment équilibrées dont les points de cassure siègent, pour chacun des deux chromosomes, à l'intérieur des gènes impliqués (pour revue, voir [11, 12]). Elles forment ainsi des gènes de fusion et des transcrits chimériques, pouvant aboutir à l'expression d'une protéine anormale. Ces translocations constituent des événements initiaux spécifiques d'un type de tumeur donné, donc de grande valeur diagnostique, qui seront suivis d'anomalies de nombre ou de structure surajoutées au cours de la progression tumorale. Ce modèle, très représenté dans les hémopathies, est observé particulièrement dans les sarcomes et les tumeurs neuroectodermiques (Tableau I). L'identification des remaniements a montré qu'il s'agissait essentiellement de gènes de facteurs de transcription, pouvant donc dérégler des expressions géniques. La confrontation des remaniements identifiés avec les types de tumeurs examinés a apporté plusieurs informations importantes. Elle a montré tout d'abord qu'une même translocation peut être partagée par des tumeurs différentes sur le plan histologique, permettant de les rattacher à la même origine histogénétique. Il en est ainsi de la translocation t(11;22), aboutissant à la fusion des gènes *FLI1* et *EWS*, retrouvée dans la tumeur d'Ewing (figure 4), mais aussi dans le neuroépithéliome, la tumeur d'Askin, et l'esthésioneuroblastome (*m/s* 1993, n° 9, p. 994). Cela a amené

Tableau I		
REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES ET GÈNES IMPLIQUÉS DANS LES TUMEURS À GÈNE DE FUSION		
Type tumoral	Remaniement chromosomique	Gènes fusionnés
Tumeur d'Ewing	t(11;22)(q24;q12) t(21;22)(q22;q12) t(7;22)(p22;q12) t(17;22)(q12;q12)	<i>FLI1/EWS</i> <i>ERG/EWS</i> <i>ETV1/EWS</i> <i>E1AF/EWS</i>
Chondrosarcome myxoïde	t(9;22)(q22;q12)	<i>TEC/EWS</i>
Tumeur desmoplastique à cellules rondes	t(11;22)(p13;q12)	<i>WT1/EWS</i>
Mélanome des tissus mous	t(12;22)(q13;q12)	<i>ATF1/EWS</i>
Dermatofibrosarcome protubérant	r, t(17;22)(q22;q23)	<i>COL1A/PDGFB</i>
Fibrosarcome congénital, néphrome mésoblastique	t(12;15)(p13;q25)	<i>ETV6/NTRK3</i>
Rhabdomyosarcome alvéolaire	t(2;13)(q35;q14) t(1;13)(p36;q14)	<i>PAX3/FKHR</i> <i>PAX7/FKHR</i>
Sarcome synovial	t(X;18)(p11.2;q11.2)	<i>SSX1/SYT</i> <i>SSX2/SYT</i>
Liposarcome myxoïde	t(12;16)(q13;p11)	<i>CHOP/FUS-TLS</i>
Carcinome papillaire juvénile du rein	t(X;1)(p11;q21) t(X;1)(p11;p34) t(X;17)(p11;q25)	<i>TFE3/PRCC</i> <i>TFE3/PSF</i>
Carcinome papillaire de la thyroïde	inv, t(10;...)(q11.2;...)	<i>RET/PTC1, 2, 3</i>

à regrouper toutes ces tumeurs dans la famille des tumeurs d'Ewing [13]. Il existe des variants de ce remaniement, et, dans environ 10 % des cas, le chromosome 22 est transloqué avec d'autres partenaires que le 11, principalement le 21 et le 7, aboutissant à une fusion *ERG/EWS* et *ETV1/EWS*. Un autre point important a été la démonstration qu'un même gène pouvait être impliqué, par remaniements avec d'autres partenaires, dans des tumeurs de types différents. Ainsi, *EWS* est impliqué dans une fusion avec *TEC* à la suite d'une translocation t(9;22) dans le chondrosarcome myxoïde, dans une fusion avec *WT1* par une translocation t(11;22), différente de celle des tumeurs d'Ewing, dans la tumeur desmoplastique à cellules rondes, dans une fusion avec *ATF1* par une translocation t(12;22), et dans le

mélanome des tissus mous (*m/s 1993, n° 1, p. 1267*). Il apparaît aussi que plusieurs gènes impliqués dans les tumeurs solides, le sont aussi dans des leucémies. L'élément transloqué peut être, de plus, amplifié, c'est-à-dire dupliqué en un grand nombre de copies, comme dans le dermatofibrosarcome protubérant, ou le rhabdomyosarcome alvéolaire. Ces remaniements constituant la signature génétique d'un type de tumeurs donné, ont une grande utilité diagnostique, surtout du fait que ces tumeurs sont souvent peu différenciées sur le plan histologique. Le clonage des points de cassure des translocations et l'identification des gènes impliqués a ouvert la possibilité d'un diagnostic moléculaire rapide et sensible par PCR. L'examen caryotypique conserve son intérêt pour la reconnaissance des translocations

variantes et des anomalies additionnelles, gains et pertes de segments chromosomiques, amplifications, dont la signification pronostique est actuellement à l'étude dans plusieurs types tumoraux.

Les tumeurs avec délétions

Ce modèle a été inauguré par l'exemple du rétinoblastome, amenant au concept de gènes suppresseurs de tumeurs (pour revue, voir [14, 15]). Cette tumeur pédiatrique de l'œil peut survenir soit sous forme héréditaire, soit sous forme sporadique (*m/s 1990, n° 10, p. 972*). Knudson, en 1971, étudiant la fréquence du rétinoblastome dans les deux formes, a proposé le modèle maintenant classique, à deux étapes [16]. Le rétinoblastome survient par inactivation des deux copies du gène dans la

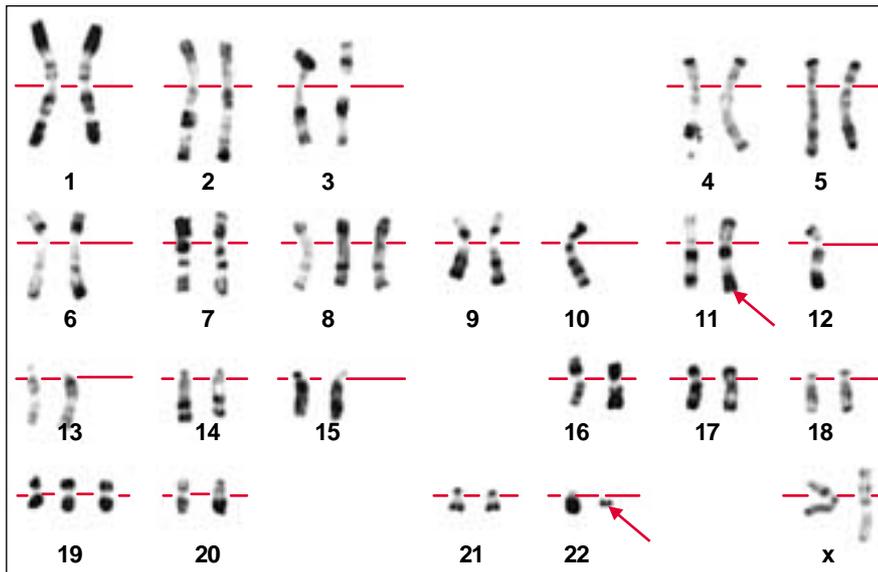


Figure 4. **Caryotype d'une tumeur d'Ewing, montrant la présence de la translocation 11-22 caractéristique.** Trisomies 8 et 19, à titre d'anomalies additionnelles (les monosomies 10 et 12 étaient limitées à cette mitose).

même cellule précurseur. Le premier événement est une mutation germinale, dans les formes héréditaires, et somatique, dans les formes sporadiques. Le second événement, toujours somatique, est fréquemment une perte ou une délétion partielle du chromosome non muté, complétant ainsi l'inactivation du locus. La localisation et l'identification du gène *RBI* a été rendue possible par l'examen caryotypique de patients exceptionnels présentant, en plus d'un rétinoblastome, des malformations congénitales et un retard mental. Ces patients montraient des délétions ou

des remaniements constitutionnels impliquant constamment la bande 13q14, constituant le premier événement de la tumorigénèse. Des délétions sont retrouvées dans seulement environ 20 % des rétinoblastomes caryotypés. En effet, des délétions cytogénétiquement détectables ne sont pas les événements les plus fréquents dans le rétinoblastome, de même que dans la plupart des tumeurs à gènes suppresseurs de tumeurs. Des mécanismes comme une mutation, l'iso-disomie monoparentale, ou la reduplication d'une monosomie 13, peuvent expliquer

l'absence de délétion apparente. Comme toute autre tumeur, les rétinoblastomes peuvent montrer, en plus de la délétion du 13, anomalie primaire, des anomalies additionnelles, comme l'iso 6p, aboutissant à une tétrasomie 6p, des gains de 1q, et des pertes de 16, en particulier du 16q. Dans 2 % à 4 % des cas sont observées aussi des amplifications de *MYCN*, sous forme de chromosomes double minutes (figure 5). Ces anomalies sont liées à la progression tumorale, et leur valeur pronostique éventuelle est en cours d'étude. Le rétinoblastome montre que les délétions peuvent être causales, ou survenir à titre d'anomalies additionnelles. Les autres tumeurs associées à une délétion primaire démontrée sont peu nombreuses: le carcinome rénal non papillaire à cellules claires et le carcinome du poumon à petites cellules, avec une perte du 3p, la tumeur de Wilms, avec une perte du 11p, le méningiome et la tumeur rhabdoïde, avec une perte du 22q [14, 17].

Les sur-représentations et amplifications

Les sur-représentations, qui commencent avec les trisomies, qu'elles soient complètes ou partielles, sont extrêmement fréquentes. De signification biologique très mal connue, elles font partie, en règle générale, des anomalies additionnelles survenant lors de la progression tumorale. Sans avoir la spécificité des anomalies initiales, elles ne sont pas aléatoires. Le carcinome papillaire du rein, avec ses trisomies progressives (voir plus loin), en est un modèle caractéristique. Le rôle de la région 7q31 qui porte l'oncogène *MET* a été souligné dans ces tumeurs, malgré un nombre de mutations apparemment faible (*m/s* 1997, n° 8-9, p. 1077). La duplication du chromosome Philadelphie, porteur du gène de fusion *BCR-ABL*, observée parfois dans l'évolution de la leucémie myéloïde chronique, laisse supposer aussi la possibilité d'une sélection des cellules porteuses de plusieurs copies d'un oncogène, actif spontanément ou après gain de fonction.

Les amplifications de gènes (plus de 5 copies par génome haploïde) sont assez fréquentes dans certains types de tumeurs solides. Elles se font par

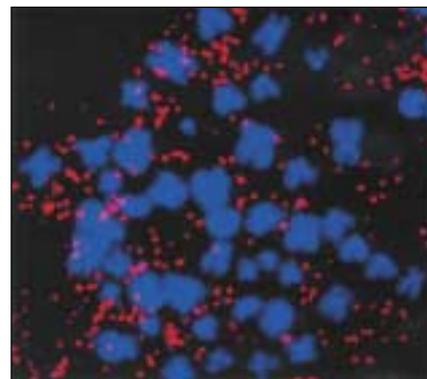
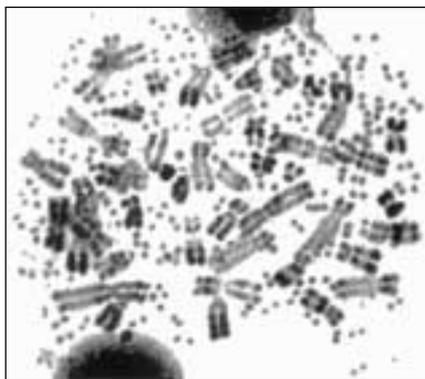


Figure 5. **Amplification de l'oncogène MYCN dans un rétinoblastome.** La métaphase montre la présence de très nombreux chromosomes double minutes (à gauche). La FISH avec une sonde de MYCN marquée à la rhodamine montre les signaux d'hybridation sur les double minutes (à droite).

la multiplication parfois très importante (50 à 100 copies) de chromosomes minuscules appelés « double minutes » (figure 5). Ce sont des éléments acentriques, et leur nombre varie considérablement d'une cellule à l'autre en raison de leur ségrégation aléatoire lors de la mitose. Les amplifications peuvent aussi prendre la forme de HSR (*homogeneously staining region*), segments de coloration homogène attachés à un ou à plusieurs chromosomes, faits de duplications en tandem d'une séquence génique. Des modèles expérimentaux d'ampli-

fication de gènes de résistance à des drogues induite par un traitement des cellules avec ces produits montrent le rôle de sites fragiles, la création d'anneaux excisés ou l'obtention de HSR par un processus de ponts-cassures-fusion [18]. *In vivo*, les amplifications touchent de nombreux oncogènes dont la séquence ne semble pas altérée. Il s'agirait là d'un effet de dose. Les fonctions de ces gènes sont très diverses (Tableau II). Les amplifications s'observent dans un grand nombre de types tumoraux (Tableau III) et surviennent, en règle

générale, au cours de la progression tumorale [8, 19]. Dans le neuroblastome, l'amplification de *MYCN* a une valeur pronostique péjorative clairement établie. L'oncogène *ERBB2* est amplifié dans 20 % environ des cancers du sein [20], par formation d'HSR (figure 6); cette amplification est très fortement corrélée à l'expression de la protéine [21]. Cette hyperexpression est à l'origine d'une stratégie originale de traitement ciblé des patientes ayant une tumeur avec amplification du gène, par l'intermédiaire d'anticorps anti-c-erbB-2 [22].

Tableau II
ONCOGÈNES CONNUS POUR ÊTRE IMPLIQUÉS DANS DES AMPLIFICATIONS
DANS LES TUMEURS SOLIDES

Oncogène	Localisation	Fonction de la protéine	Type de cancer
<i>BCL1</i>	11q13.3 G1/S-spécifique	Cycline D1	Sein, ORL, vessie
<i>CDK4</i>	12q14	Kinase dépendante des cyclines	Sarcomes
<i>MDM2</i>	12q14-15	Protéine se liant à p53	Sarcomes
<i>EGFR/ERBB1</i>	7p12	Récepteur de l'EGF	Glioblastome multiforme, carcinomes épidermoïdes, sein, vessie
<i>ERBB2/NEU</i>	17q12-q21	Récepteur de facteur de croissance	Sein, ovaire, estomac, rein, glandes salivaires, côlon
<i>HSTF1</i>	11q13.3	Facteur de croissance des fibroblastes 4	Sein, œsophage
<i>INT1/WNT1</i>	12q13	Facteur de croissance ?	Rétinoblastome
<i>INT2</i>	11q13.3	Facteur de croissance des fibroblastes 3	Sein, œsophage, ORL, mélanome
<i>MET</i>	7q31	Récepteur du facteur de croissance des hépatocytes	Estomac
<i>MYB</i>	6q22-q23	Protéine se liant à l'ADN	Côlon, mélanome
<i>MYC</i>	8q24.12-13	Protéine se liant à l'ADN	Poumon à petites cellules, poumon à cellules géantes, sein, côlon, estomac, col utérin
<i>MYCN</i>	2p24.3	Protéine se liant à l'ADN	adénocarcinome du poumon, poumon à petites cellules, neuroblastome, rétinoblastome, médulloblastome, glioblastome, astrocytome, rhabdomyosarcome
<i>MYCL1</i>	1p34.3	Protéine se liant à l'ADN	Cancer du poumon à petites cellules
<i>RAF1</i>	3p25	Sérine/thréonine protéine-kinase	Adénocarcinome du poumon
<i>HRAS1</i>	11p15.5	GTPase	Vessie
<i>KRAS2</i>	12p12.1	GTPase	Corticosurrénalome, carcinome du poumon à cellules géantes
<i>NRAS</i>	1p13	GTPase	Sein

D'après [19].

Tableau III

RÉGIONS CHROMOSOMIQUES D'AMPLIFICATION RÉCURRENTÉ DÉTECTÉES PAR CGH (ADAPTÉ DE [19])

Tumeur	Régions amplifiées
Sarcomes	
Ostéosarcome	1p22-31, 1q21-23, 6p11-21, 8q21-23, 12p13, 17p11-12, Xp11-21
Tumeur d'Ewing	1q21-22
Histiocytome fibreux malin des tissus mous	1q21-23, 5p14-15, 12q13-14, 13q31-qter
Liposarcome bien différencié	1q21-23, 12q14-21
Léiomyosarcome	1q21-23, 8q, 17p
Synoviosarcomes	8q
Rhabdomyosarcomes embryonnaires	8q
Rhabdomyosarcomes alvéolaires	2p24, 12q13-q15, 13q14
Carcinomes	
Sein	8p11-12, 8q23-qter, 11q13-q14, 15q24-qter, 17q11-12, 17q22-q25, 20q12-q13
Ovaire	1q23-32, 6p21, 12p12
Col utérin	3q24-28, 5p13-pter
Testicule	12p11-12, 19p13.2-pter
Cancer papillaire du rein	7q31
Cancer du poumon à petites cellules	1p32-36, 2p23, 3q26-qter, 5p, 7q11, 8q24, 13q33-34, 19q13
Cancer épidermoïde du poumon	3q26, 5p15, 6p12, 7q11, 8q22-24, 11q13-14, 12p11-12, 13q22-qter, 14q13-21, 17q24-25, 19q, 20p11-12
ORL	1q21-23, 2q31-33, 3q24, 3q26-qter, 5p15, 7q21-22, 8q24, 11q13-q14, 12p12-pter
Foie	1q11-q23, 6p11-22, 8q11-24, 17p11, 20q13-qter, Xq22-qter
Œsophage	5p, 11q11-13, 20q
Estomac	7q31, 8p22-23, 8q23-24, 17q12-21, 20q
Côlon	8q24, 20q13
Tumeurs nerveuses	
Tumeurs gliales	7p12-13, 7q21, 8q23-24, 12p, 12q13-15, 13q32-34
Médulloblastome	8q24
Neuroblastome	2p23-p25
Neurosarcomes des NF1	17q24-q25
Mélanome	6p, 8q, 8q24-qter,

Les tumeurs bénignes

Les études cytogénétiques ont montré que des tumeurs bénignes pouvaient présenter des anomalies chromosomiques clonales, équilibrées ou déséquilibrées (pour revue, voir [12]). Des sous-types caryotypiques peuvent même être individualisés sur la base des remaniements observés, comme dans les adénomes pléomorphes de la parotide, les leiomomes et les lipomes. Certaines tumeurs bénignes ont un potentiel de récurrence. Le modèle du méningiome est caractéristique : environ 10 % d'entre eux, considérés comme atypiques sur le plan histologique, sont classés grade II ou III, et peuvent récidiver, même après exé-

rése apparemment complète. Les corrélations histopathologiques et cytogénétiques ont montré que les tumeurs de grade I présentent une monosomie 22 complète ou partielle isolée, alors que des anomalies complexes de nombre et de structure sont observées dans les tumeurs de grades II et III [23, 24]. Les études en CGH ont montré l'accumulation des anomalies génomiques quantitatives avec l'augmentation de la malignité. Dans les tumeurs de grade II sont observées, en plus de la perte de 22, des pertes des 1p, 14q, 18q, 10, et 6q, et des gains de 20q, 12q, 15q, 1q, 9q, et 17q, par ordre de survenue [25]. Dans les tumeurs de grade III, les pertes des 10, 14q, 6q, et 9p sont observées avec une fréquence accrue.

Ces tumeurs présentent en outre des amplifications fréquentes de 17q23 [25]. Ce modèle montre l'apport de la cytogénétique dans l'évaluation du pronostic de tumeurs de malignité incertaine.

Des tumeurs complexes

Certains types de tumeurs peuvent être complexes du fait de leur hétérogénéité génétique, ou de l'intrication dans le même type tumoral de plusieurs modèles de carcinogenèse, comme dans le neuroblastome et les carcinomes rénaux. D'autres tumeurs, comme la majorité des carcinomes, sont complexes car elles sont le produit d'une accumulation d'événements génétiques progressifs.

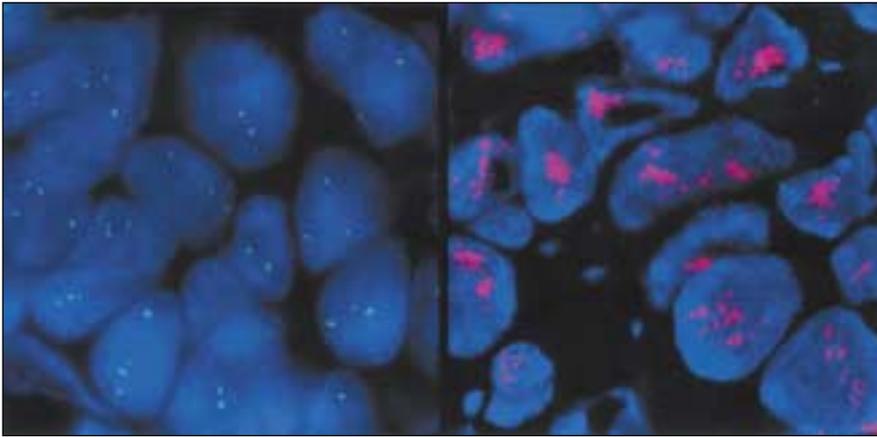


Figure 6. **Analyse du statut de l'oncogène ERBB2 par FISH avec une sonde marquée à la fluorescéine sur coupes histologiques dans les cancers du sein.** À gauche, tumeur sans amplification : présence de 2 à 3 copies du gène par noyau. À droite, tumeur avec forte amplification : présence de très nombreux signaux par noyau, groupés en amas.

Le neuroblastome

Le neuroblastome constitue la tumeur solide extracérébrale la plus fréquente de l'enfant, avec une incidence de 1 cas pour 7 500 naissances. Il se caractérise par une extrême variabilité clinique. Dans certains cas, la tumeur guérit après un traitement minime, ou même régresse spontanément. Dans d'autres cas, la tumeur est très agressive. Cerner au plus juste, dès le diagnostic, le pronostic de chaque cas est capital, car les décisions thérapeutiques qui en découlent sont lourdes de conséquences. Ont valeur pronostique, l'âge au diagnostic et l'extension de la tumeur. Les stades I et II, localisés, sont d'évolution favorable, alors que les tumeurs de stades III et IV, volumineuses et métastatiques, sont de pronostic réservé [26]. Ces seuls critères cliniques restent cependant incertains, surtout dans les formes intermédiaires (stades IIb et III). Ces tumeurs présentent plusieurs marqueurs génétiques caractéristiques [27, 28]. Les tumeurs des stades I, II, et parfois III sont fréquemment triploïdes. Cette triploïdie est, en règle générale, associée à un pronostic favorable. Une amplification de l'oncogène *MYCN* sous forme de chromosomes double minutes, détectable par technique de FISH (figure 7), est observée surtout dans des stades III et IV, et est de mauvais pronostic. L'existence de micrométastases médullaires peut aussi être

détectée par cette approche, qui peut être sensibilisée en combinant anticorps spécifiques de neuroblastes et FISH. Une délétion du bras court du chromosome 1, dans la région 1p36 est observée fréquemment (figure 7). Elle serait aussi de valeur pronostique défavorable (*m/s 1996, n° 6, p. 756*). Il est probable qu'une autre région, plus proximale, soit aussi impliquée. La sur-représentation de la région 17q a été mise en évidence plus récemment [29]. Il s'agit en général de fragments de 17q22-17qter transloqués sur d'autres chromosomes de manière déséquilibrée, avec des points de cassure variables d'un malade à l'autre et parfois dans la même cellule. Une forme récurrente d'anomalie est le der(1)t(1;17) qui aboutit au remplacement de 1p34-p36 par 17q22-qter. Cette anomalie, qui se produit en phase G2, aboutit fonctionnellement à une del(1p) et à une trisomie 17q22-qter. La sur-représentation du 17q est l'anomalie génétique la plus fréquente du neuroblastome, suivie de la del(1p) et de l'amplification de *MYCN*. Ces résultats ont été ultérieurement confirmés sur plus de 300 cas par une étude collaborative par technique de FISH ou CGH entre plusieurs laboratoires européens, dans le but de préciser le rôle pronostique de ces remaniements [30]. Toutes les tumeurs présentant une amplification de *MYCN* présentaient, soit la sur-représentation de la région 17q22-qter (71 % des cas), soit la

délétion 1p, soit encore une association des deux. Aucune amplification de *MYCN* n'a été observée en l'absence de l'un ou l'autre de ces deux remaniements. Ces résultats suggèrent que la sur-représentation du 17q ou la délétion 1p sont des préalables indispensables à l'amplification de *MYCN*. L'étude de la survie de ces patients a démontré que les facteurs de plus mauvais pronostic étaient, par ordre décroissant, le gain de 17q (facteur de risque de décès $\times 3,4$), la délétion 1p (risque $\times 2,2$), le stade IV (risque $\times 1,9$). Le neuroblastome est ainsi un exemple de la contribution de la cytogénétique à la classification d'une entité morbide hétérogène, et à l'établissement du pronostic de ses sous-types. C'est aussi l'exemple d'une tumeur complexe associant le modèle de gène(s) suppresseur(s) de tumeur, et l'existence d'amplifications d'un oncogène.

Les carcinomes rénaux

Ils forment un groupe hétérogène de tumeurs qui peut être divisé en plusieurs types en fonction de leur cytologie, de leur architecture, et de la cellule du néphron de laquelle ils sont supposés dériver. Deux types principaux, les carcinomes non papillaires à cellules claires, et les tumeurs papillaires, représentant respectivement 80 % et 10 % des carcinomes rénaux peuvent être distingués, mais il existe parfois des chevauchements entre les deux types. Typiquement, les tumeurs non papillaires sont d'emblée carcinomateuses, tandis qu'existe, pour les tumeurs papillaires, un continuum entre adénome et carcinome, rendant parfois difficile le diagnostic de malignité. Le pronostic des tumeurs papillaires est meilleur que celui des non-papillaires. Les données cytogénétiques, puis moléculaires, ont montré que les deux types différaient clairement sur le plan génétique : les carcinomes non papillaires sont caractérisés par une perte du bras court du 3 impliquant au moins la région p11-21, non retrouvée dans le type papillaire [31]. Cette délétion est, dans 50 % des cas, le résultat d'une translocation déséquilibrée du 3 avec la région 5q22-23, aboutissant aussi à une trisomie partielle pour le bras long du 5.

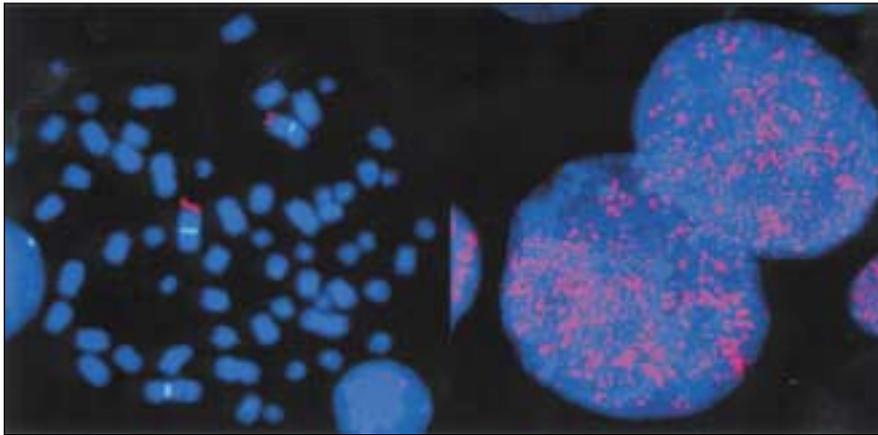


Figure 7. **Analyse par FISH du statut de deux facteurs pronostiques dans le neuroblastome: la délétion du bras court du 1, et l'amplification de MYCN.** À gauche, double hybridation avec une sonde centromérique du 1 marquée par la fluorescéine, et une sonde télomérique du 1p marquée par la rhodamine, sur une métaphase d'un neuroblastome. L'un des 1 n'hybride pas la sonde rouge, et est donc délété. À droite, hybridation avec une sonde de MYCN marquée par la rhodamine sur des noyaux interphasiques de la même tumeur. Présence de très nombreux signaux attestant la présence d'une amplification de l'oncogène.

La perte du 3p est très probablement initiale. Cette délétion évoque un modèle par perte de gène(s) suppresseur(s) de tumeurs, dont l'identification est en cours. Le gène *VHL*, dont les mutations prédisposent, entre autres, aux tumeurs du rein dans le syndrome de Von Hippel Lindau, est localisé à proximité du télomère en 3p25-p26, mais n'est probablement pas impliqué dans la majorité des carcinomes sporadiques. Les tumeurs papillaires ne montrent pas la délétion du 3p, mais des gains systématisés de chromosomes, avec, au stade adénome, trisomies 7 et 17, et perte de l'Y chez l'homme. La progression du stade adénome au stade carcinome se fait par gain de chromosomes 7, 12, 16, 17, et 20, par ordre d'acquisition [31]. Ce type tumoral illustre le caractère multi-étapes de la carcinogenèse, particulièrement clair dans les carcinomes. La signification de ces sur-représentations chromosomiques n'est pas connue à l'heure actuelle. L'analyse de carcinomes papillaires métastatiques a montré dans deux tumeurs la présence en excès de minichromosomes dont l'analyse après microdissection a montré qu'ils étaient constitués de la bande 7q31, contenant l'oncogène *MET* [32]. Il est ainsi pos-

sible que la sur-représentation du 7 puisse augmenter l'expression de *MET*. Cela est à rapprocher de très rares tumeurs papillaires familiales du rein dans lesquelles le gène de susceptibilité est, là aussi, *MET*, mais avec des mutations oncogènes [33]. Des mutations de *MET* entraînant un gain de fonction ont été aussi trouvées dans quelques tumeurs sporadiques. Récemment, à côté de ce type de tumeurs rénales papillaires avec anomalies de nombre, a été individualisé un sous-type rare, survenant chez le sujet jeune, caractérisé par des translocations du chromosome X: t(X;1)(p11.2;q21.2), et, exceptionnellement, t(X;1)(p11.2;p34) et t(X;17)(p11.2;q25) [34, 35]. La conséquence de ces translocations est la formation de gènes de fusion entre le gène de facteur de transcription *TFE3*, sur l'X, et différents partenaires, les gènes *PRCC*, sur le 1q, et *PSF*, sur le 1p [36]. Ce type de remaniements, très inhabituel dans les carcinomes, rappelle celui observé principalement dans les sarcomes. Ainsi, comme pour le neuroblastome, la cytogénétique a contribué largement, dans ces dernières années, à la révision de la nosologie de ce groupe histologiquement complexe des carcinomes rénaux.

Les carcinomes

Les carcinomes papillaires du rein mis à part, les carcinomes en général, tumeurs de loin les plus fréquentes en pathologie humaine, échappent pour le moment largement à l'analyse cytogénétique, et c'est probablement pour ces tumeurs que des progrès significatifs sont à attendre dans les prochaines années. Les carcinomes sont le modèle du processus multi-étapes de la progression tumorale, et l'introduction de la CGH est en train de clarifier notre compréhension des déséquilibres génomiques complexes de ces tumeurs [3, 8]. Au contraire des sarcomes ou des tumeurs neuroectodermiques, les carcinomes posent peu de difficultés diagnostiques. Ils posent, en revanche, le problème de la reconnaissance, parmi les tumeurs de bas grade histologique, de celles qui seront néanmoins de pronostic défavorable. L'identification de marqueurs génomiques, tels que pertes, gains, ou amplifications, devrait permettre d'améliorer l'évaluation pronostique et la prise en charge thérapeutique de ces tumeurs.

Conclusions

De multiples données expérimentales, dont certaines toutes récentes [37], conduisent à penser que la formation d'un cancer est un processus multi-étapes. Une tumeur évolue par une succession d'expansions clonales, chacune se caractérisant par l'acquisition d'une nouvelle anomalie génétique conférant à la cellule des capacités invasives ou métastatiques supplémentaires. Dans le cas du neuroblastome, par exemple, les tumeurs peu évoluées et de bon pronostic ne présentent que peu d'anomalies génétiques, alors que les tumeurs avancées, de pronostic péjoratif, en cumulent. Cela explique la complexité parfois extrême des anomalies et la difficulté de l'analyse. Il est prévisible qu'une meilleure prise en charge thérapeutique passe par une meilleure caractérisation des tumeurs, un véritable typage génétique, qui devrait ouvrir la voie à des traitements plus spécifiques. La cytogénétique oncologique a déjà permis d'identifier de nombreuses altérations génomiques: translocations for-

mant des gènes chimériques dans de nombreux sarcomes, comme la translocation t(11;22) des tumeurs d'Ewing, délétions spécifiques comme la perte de 1p36 dans les neuroblastomes, amplifications, comme celle de *MYCN* dans cette même tumeur. Pour de nombreuses délétions, sur-représentations et amplifications, souvent liées au diagnostic, au pronostic et au suivi, est attendue l'identification des gènes impliqués. La progression tumorale, les métastases, les résistances aux drogues, témoignent de l'extrême capacité d'adaptation d'un génome pathologique aux agressions. Il est clair que l'intégration de tous les outils de la génomique au niveau de la cellule, la cytogénomique, qui explore l'organisation du génome à l'échelle de la cellule et du tissu, est une réponse au défi de caractériser chaque tumeur individuellement. Cette stratégie, qui n'est plus futuriste, pourra ouvrir la voie à l'adaptation à chaque cas des thérapies existantes, et surtout permettra l'émergence de nouvelles approches vers des thérapies ciblées hautement spécifiques ciblées sur les cellules présentant des marqueurs génétiques déterminés ■

TIRÉS À PART

A. Bernheim.

RÉFÉRENCES

- Mitelman F. Catalog of chromosome aberrations in cancer. CD-ROM. Version 1. New York : Wiley-Liss, 1998.
- Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology. <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/>.
- CGH analyses of primary human tumors. <http://www.nhgri.nih.gov/DIR/LCG/CGH>.
- ISCN. An international system for human cytogenetic nomenclature. In: Mitelman F, ed. Basel : Karger, 1995.
- Speicher MR, Gwyn Ballard S, Ward DC. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genet* 1996; 12: 368-75.
- Zattara-Cannoni H, Dufour H, Lepidi H, et al. Hidden chromosome abnormalities in a primary central nervous system lymphoma detected by multicolor spectral karyotyping. *Cancer Genet Cytogenet* 1998; 107: 98-101.
- Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; 258: 818-21.
- Forozan F, Karhu R, Kononen J, et al. Genome screening by comparative genomic hybridization. *Trends Genet* 1997; 13: 405-9.
- Vaandrager JW, Schuurings E, Kluijn-Nelemans HC, et al. DNA fiber fluorescence in situ hybridization analysis of immunoglobulin class switching in B-cell neoplasia: aberrant CH gene rearrangements in follicle center-cell lymphoma. *Blood* 1998; 92: 2871-8.
- Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA, et al. Genome-wide analysis of DNA copy number changes using cDNA microarrays. *Nat Genet* 1999; 23: 41-6.
- Mitelman F, Mertens F, Johansson B. A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nat Genet* 1997; numéro spécial: 417-74.
- Sreekantaiah C. The cytogenetic and molecular characterization of benign and malignant soft tissue tumors. *Cytogenet Cell Genet* 1998; 82: 13-29.
- Delattre O, Zucman J, Melot T, et al. The Ewing family of tumors: a subgroup of small round cell tumors defined by specific chimeric transcripts. *N Engl J Med* 1994; 31: 294-9.
- Hollingsworth RE, Lee WH. Tumor suppressor genes: new prospects for cancer research. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 91-6.
- Cowell JK, Hogg A. Genetics and cytogenetics of retinoblastoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 64: 1-11.
- Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68: 820-3.
- Rousseau-Merck MF, Versteeg I, Legrand I, et al. HSNF5/INI1 inactivation is mainly associated with homozygous deletions and mitotic recombinations in rhabdoid tumors. *Cancer Res* 1999; 59: 3152-6.
- Coquelle A, Pipiras E, Toledo F, et al. Expression of fragile sites triggers intrachromosomal mammalian gene amplification and sets boundaries to early amplicons. *Cell* 1997; 89: 215-25.
- Knuutila S, Bjorkqvist AM, Autio K, et al. DNA copy number amplifications in human neoplasms: review of comparative genomic hybridization studies. *Am J Pathol* 1998; 152: 1107-23.
- Réveillion F, Bonnetterre J, Peyrat J. ERBB2 Oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *Eur J Cancer* 1998; 34: 791-808.
- Couturier J, Vincent-Salomon A, Nicolas A, et al. Strong correlation between fluorescent in situ hybridization and immunohistochemistry for the assessment of the ERBB2 (*HER2-neu*) gene status in breast carcinoma. *Mol Pathol* 2000 (sous presse).
- Pegram M, Lipton A, Hayes D, et al. Phase II study of receptor enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185HER/neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2659-71.
- Zankl H, Zang KD. Correlation between clinical and cytogenetical data in 180 meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1980; 1: 346-51.
- Zattara-Cannoni H, Gambarelli H, Dufour D, et al. Contribution of cytogenetics and FISH in the diagnosis of meningiomas. A study of 189 tumours. *Ann Genet* 1998; 41: 164-5.
- Weber RG, Boström J, Wolter M, et al. Analysis of genomic alterations in benign, atypical, and anaplastic meningiomas: toward a genetic model of meningioma progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14719-24.
- Shimada H, Ambros IM, Dehner LP, et al. The international neuroblastoma pathology classification. *Cancer* 1999; 86: 364-72.
- Brodeur GM, Fong C. Molecular biology and genetics of human neuroblastoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 41: 153-74.
- Reiter JL, Brodeur GM. *MYCN* is the only highly expressed gene from the core amplified domain in human neuroblastomas. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 23: 134-40.
- Meddeb M, Danglot G, Chudoba I, et al. Additional copies of a 25-Mb chromosomal region originating from 17q23.1-17qter are present in 90 % of high-grade neuroblastomas. *Gene Chromosomes Cancer* 1996; 17: 156-65.
- Bown N, Cotterill S, Lastowska M, et al. Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma. *N Engl J Med* 1999; 340: 1954-61.
- van den Berg E, Dijkhuizen T, Oosterhuis JW, et al. Cytogenetic classification of renal cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 95: 103-7.
- Glukhova L, Goguel AF, Chudoba I, et al. Overrepresentation of 7q31 and 17q in renal cell carcinomas. *Genes Chrom Cancer* 1998; 22: 171-8.
- Schmidt L, Junker K, Nakaigawa N, et al. Novel mutations of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Oncogene* 1999; 18: 2343-50.
- Dijkhuizen T, van den Berg E, Störkel S, et al. Distinct features for chromophilic renal cell cancer with Xp11.2 breakpoints. *Cancer Genet Cytogenet* 1998; 104: 74-6.
- Pérot C, Bougaran J, Boccon-Gibod L, et al. Two new cases of papillary renal cell carcinoma with t(X;1)(p11;q21) in females. *Cancer Genet Cytogenet* 1999; 110: 54-6.
- Clark J, Lu YJ, Sidhar SK, et al. Fusion of splicing factor genes PSF and NonO (p54^{nrb}) to the TFE3 gene in papillary renal cell carcinoma. *Oncogene* 1997; 15: 2233-9.
- Hahn WC, Couter CM, Lundberg AS, et al. Creation of human tumour cells with defined genetic elements. *Nature* 1999; 400: 464-8.

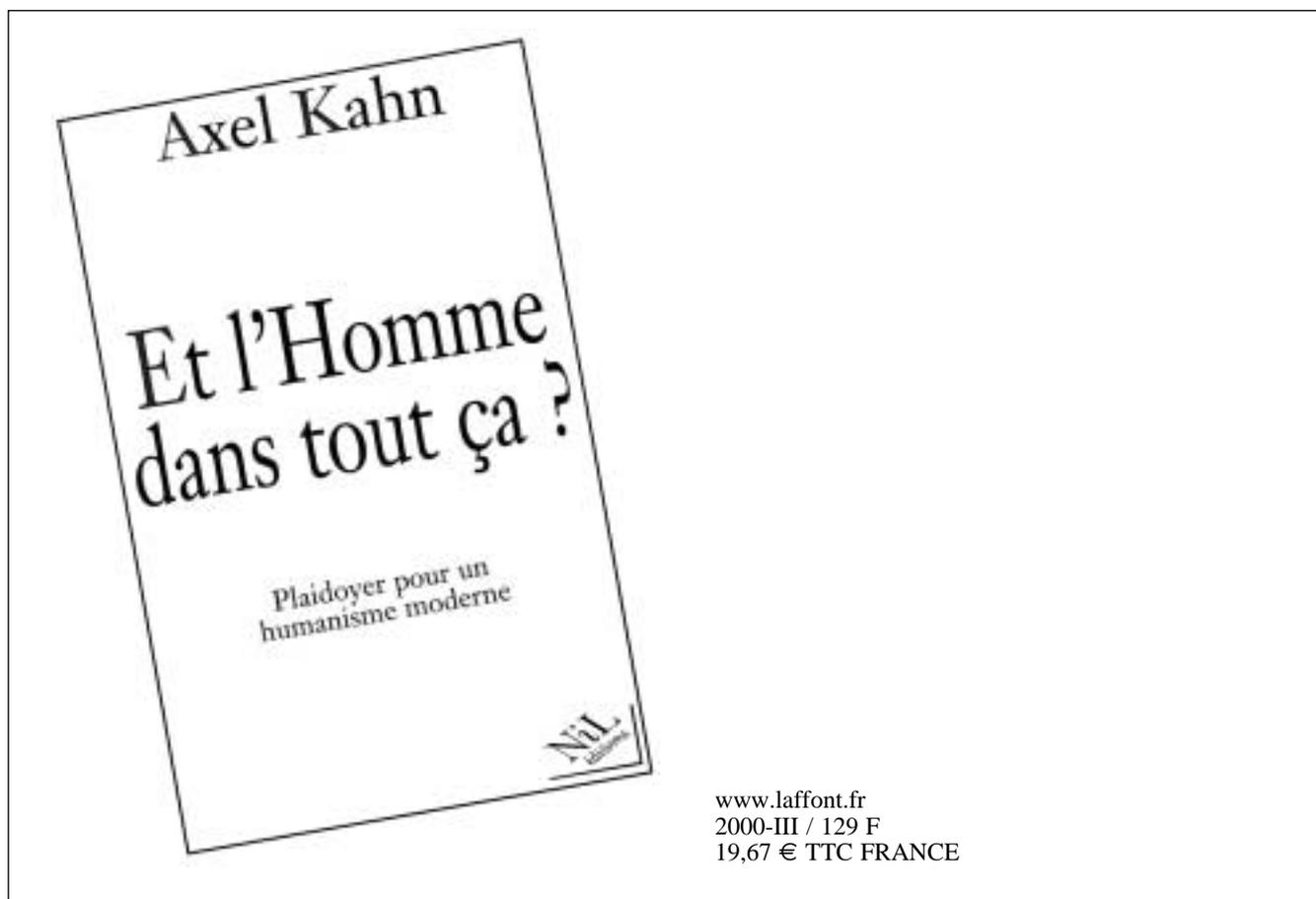
Summary

From cytogenetics to cytogenomics of tumors

Cytogenetics of malignancy developed over the last thirty years have clearly demonstrated that cancers are an acquired genetic, in fact genomic, disease of the cell, thus validating the old Boveri hypothesis. Nearly all tumors clearly show genomic abnormalities with a monoclonal expansion in most cases. Formation of fusion genes is the first type, the prototype being the FLI1-EWS fusion due to the t(11;22)(q24;q12) translocation from Ewing sarcoma. These are most often observed in sarcomas or in neuroectodermal tumors. The fusion gene can be amplified, for example the PAX3/FKHR fusion of t(2;13)(q35;q14) characteristic of alveolar rhabdomyosarcoma. The second type is loss of genetic information either following chromosomal rearrangements (deletions, unbalanced

translocations) or other genetic events (mutation, loss of function) detected by a loss of heterozygosity. Tumor suppressor genes are generally involved in these frequent rearrangements. The third type of genomic event are gains of genetic material, ranging from moderate over-representation of a chromosomal segment to amplified sequences of oncogenes taking on the appearance of double minute or HSR during metaphases. Small gains are more difficult to study than amplified regions, and are less well known, but recent results clearly show that the dosage effect of oncogenes is also probably involved in their selection. The multistep process leading to malignancy is demonstrated by the presence of acquired multiple chromosomal abnormalities in solid tumors, and

their increasing complexity during metastasis or relapse. Several of the genomic rearrangements are tumor-specific and can be used for diagnosis, and in some situations for prognosis. For example in neuroblastoma, one of the most frequent solid tumor of children, deletion of 1p36, amplification of *MYCN* and over-representation of 17q in tumor cells, are important prognostic factors. Cytogenomics of malignant cells ranges from chromosome banding morphology to DNA-DNA micro-arrays through FISH, CGH, DNA fibers, microdissection and careful determination of the phenotype of studied cells. This will allow individual genotyping of the malignant tumor which is a prerequisite to highly targeted and therefore specific treatments.



www.laffont.fr
2000-III / 129 F
19,67 € TTC FRANCE