

LIVRET DES COMMUNICATIONS

Le Mercredi après-midi :
« Accélérer l'innovation en oncologie »

- Présentation du programme **OncoSTART**, créé pour dynamiser et accompagner l'entrepreneuriat dans l'innovation contre les cancers, et dont le CNO est l'un des membres fondateurs,
- Parole à **3 start-ups innovantes de notre interrégion : Hemerion Therapeutic, Yes Technologies et Genexpath.**

Prix de l'Innovation remis par le GEFLUC Normandie



Rendez-vous B2B
avec les structures de
valorisation

Au programme

- Les perspectives au sein des axes de recherche et des groupes de travail du CNO,
- La présentation des projets financés dans le cadre des AAP Emergence et Structuration du CNO.

Le vendredi matin :
session thématisée sur « Plasticité
cellulaire et cancer : cannibalisme,
autophagie et émergence »

Session JEUNES CHERCHEURS
10 Communications orales et 58 posters
avec remise de prix





cancéropôle
Nord-Ouest

Accélérer la recherche & l'innovation en cancérologie

Cancéropôle Nord-Ouest
Maison régionale de la recherche clinique
6 rue du Pr Laguesse - BP 40118 - 59016 Lille Cedex France
Tél : +33 (0)3.20.30.84.54

Equipe du CNO

Guy Launoy, Président
guy.launoy@unicaen.fr

Véronique Pancré, Directrice Scientifique
veronique.pancré@canceropole-nordouest.org

Philippe Charpentier, Directeur
philippe.charpentier@chru-lille.fr

Louis-Ferdinand Pépin,
Coordinateur des actions en recherche clinique
louis-ferdinand.pépin@chb.unicancer.fr

Véronique Durnez,
Chargée des activités administratives et financières
veronique.durnez@canceropole-nordouest.org

Anne Lenoir, Chargée de mission scientifique
anne.lenoir@canceropole-nordouest.org

Sophie Broutin, Chargée de communication
sophie.broutin@canceropole-nordouest.org

Pascaline Potier, Assistante administrative
pascaline.potier@canceropole-nordouest.org

Sommaire

SOMMAIRE	P 3
EDITO	P 4
PROGRAMME DES 13ÈMES JOURNÉES SCIENTIFIQUES	P 5 - 8
SOUTIEN DES LABORATOIRES	P 9
SESSION THÉMATIQUE « ACCELERER L'INNOVATION EN ONCOLOGIE »	P 10 - 13
SESSION THÉMATIQUE « PLASTICITÉ CELLULAIRE ET CANCER »	P 14 - 16
PROJETS EMERGENTS CNO : PRÉSENTATION DES RÉSULTATS	P 17 - 27
PROJET STRUCTURANT CNO : PRÉSENTATION DES RÉSULTATS	P 28 - 29
SESSION JEUNES CHERCHEURS	P 30
RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS ORALES SÉLECTIONNÉES	P 31 - 40
RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES	P 41 - 99
- Axe 1 : Médecine de précision des tumeurs solides	P 41 - 68
- Axe 2 : Aspects cliniques et biologiques des hémopathies malignes	P 69 - 74
- Axe 4 : Cancer et Neurosciences	P 75 - 93
- Axe 5 : Cancers, individu et société	P 94 - 99
AGENDA DES PROCHAINS ÉVÈNEMENTS DU CNO	P 100 - 101
TABLEAU DES COMMUNICATIONS ORALES ET POSTERS PAR ORDRE ALPHABÉTIQUE - SESSION JEUNES CHERCHEURS	P 102

Edito

Nous retrouvons cette année des conditions proches de la normalité pour organiser les échanges scientifiques autour des travaux des équipes du Cancéropôle Nord-Ouest. Merci à tous ceux qui ont rendu cela possible : toutes les personnes impliquées dans la prise en charge des patients atteints de COVID, comme toutes celles impliquées dans la cassure des chaînes de transmission et dans le déploiement de la vaccination. Durant ces journées, nous verrons que malgré l'épidémie en cours et les conditions de l'urgence sanitaire, le cancéropôle et ses équipes ont été très actives. Comme d'habitude une large place sera réservée aux présentations scientifiques des plus jeunes d'entre nous. Une session thématique sera consacrée à la plasticité cellulaire et nous consacrerons une demi-journée à présenter les dispositifs de valorisation et de jeunes start-ups du territoire. Nous prendrons aussi le temps d'évoquer la carrière de Thierry Frebourg, fer de lance de notre Cancéropôle, qui nous a quitté bien trop tôt.

Guy Launoy
Président du Cancéropôle Nord-Ouest

Enregistrement des participants dès 13h15

13h30 Café d'accueil

13h55 - 14h30

Accueil et Introduction

Guy LAUNOY, Président du CNO

Les Orientations Stratégiques du CNO

Véronique PANCRÉ, Directrice scientifique du CNO

14h30 - 16h00

Session thématisée

ACCELERER L'INNOVATION EN ONCOLOGIE

14h30 - 14h45

Présentation du programme OncoSTART, Lucia ROBERT (p10)

14h45 - 15h00

Présentation de l' A.M.I Oncologie (SATT Nord et Normandie Valorisation)

15h00 - 15h45

Présentation de 3 start-ups innovantes de l'inter-région :

- Genexpath. Philippe RUMINY, Rouen (p11)
- Hemerion Therapeutic. Maximilien VERMANDEL, Lille (p12)
- Yes Technologies. Philippe SAUDEMONT, Lille (p13)

15h45 - 16h00

Prix de l'Innovation GEFLUC Normandie, remis par son vice-président Pierre MARTIN



16h00 - 16h30

Pause

16h30 - 17h00

Projet Structurant 2019

- Développement d'un micro-dispositif biomimétique pour l'étude du processus métastatique au foie – SYSMOL. Anthony TREIZEBRE (Axe 1) (p29)

SESSION POSTERS JEUNES CHERCHEURS**17h00 - 17h30 : Présentations FLASH**

Présentations orales de 3 minutes par les auteurs des 10 meilleurs posters présélectionnés.

17h30 - 19h00 : Visite des posters pairs

17h30 - 19h00

Rendez-vous B2B avec les structures de valorisation

20h00 - 22h00

Cocktail dînatoire autour de l'espace poster

Enregistrement des participants dès 8h15

8h30 - 9h00

Accueil

9h00 - 12h00

SESSION JEUNES CHERCHEURS

Communications orales



1. COVIPACT : Evaluation longitudinale des symptômes de stress post-traumatique pendant la pandémie de COVID-19 en population oncologique. *Etienne BASTIEN* (Axe 5) (p40)
2. L'activité physique réduit la cachexie observée après irradiation cérébrale chez le rat. *Julie BÉCAM* (Axe 4) (p37)
3. Programme de stimulation cognitive informatisé pour améliorer les troubles cognitifs chimio-induits des patients atteints de cancer: un essai contrôlé randomisé. *Mélanie DOS SANTOS* (Axe 4) (p38)
4. Le 5-Fluorouracil impacte le microbiote et l'inflammation intestinales, génère un statut inflammatoire systémique et entraîne des troubles cognitifs et comportementaux : prévention de baisse d'activité ou « neurofatigue » par le Qiseng. *Renaud PARMENT* (Axe 4) (p39)
5. Impact d'un algorithme de machine learning de resampling sur les radiomiques en IRM. *Ilyass MOUMMAD* (Axe 3) (p36)
6. Cyclin D1 cible hexokinase 2 et contrôle la glycolyse oxydative dans le myélome multiple. *Méloody CAILLOT* (Axe 2) (p34)

10h30 - 11h00

Pause

7. Rôle des canaux calciques (store operated channels) et de la signalisation calcium-dépendante associée dans la régulation des propriétés des cellules souches leucémiques. *Clara LEWUILLON* (Axe 2) (p35)
8. Modèles de vaisseaux sanguins-sur-puce pour l'étude fonctionnelle des cellules endothéliales. *Elise DELANNOY* (Axe 1) (p31)
9. Les domaines EGF de l'oncomucine MUC4 interagissent avec ErbB2 pour activer la progression tumorale pancréatique et représentent de nouvelles cibles thérapeutiques. *Nicolas STOUP* (Axe 1) (p32)
10. Efficacité de l'inhibiteur d'HDAC belinostat, en monothérapie ou associé à des inhibiteurs de Bcl-xL ou de Mcl-1, dans un modèle ex vivo d'organoïdes tumoraux ovariens. *Cécilia THOMINE* (Axe 1) (p33)

12h00 - 12h40

AXE 4 : Cancer et Neurosciences

- Perspectives de l'Axe (20')
- Le fonctionnement de la mémoire prospective dans le cancer du sein : étude de l'effet du sommeil à l'aide d'une épreuve de réalité virtuelle (PROSOM-K). *Mylène DUVIVON* (Projet Emergent 2018) (20') (p26)

12h40 - 14h00

Cocktail déjeunatoire

14h00 - 15h30

**SESSION POSTER JEUNES CHERCHEURS**

Visite des posters impairs

15h30 - 16h20

AXE 3 : Imagerie et adaptation thérapeutique

Les perspectives de l'axe. (10')

- RADIOMICS-NET. *Romain MODZELEWSKI* (Projets Emergents 2019) (20') (p24)
- Etude de faisabilité de la constitution d'une base de données multi-modalités et multicentrique en vue de l'analyse Radiomics dans le pronostic des patients traités par radiothérapie stéréotaxique pour une tumeur hépatique. Etude ancillaire STEREO LIVER. *David PASQUIER* (Projets Emergents 2019) (20') (p25)

16h20 - 17h10

AXE 2 : Aspects cliniques et biologiques des hémopathies malignes

Les perspectives de l'axe. (10')

- Caractérisation des lymphocytes T dits « épuisés » dans un modèle murin de leucémie aiguë myéloïde et détermination de leurs spécificités envers la protéine WT1 avant et après traitement par chimiothérapie. *Meriem BEN KHOUD* (Projets Emergents 2018) (20') (p22)
- Analyse unicellulaire de l'hétérogénéité de la leucémie pour déchiffrer la réponse in vivo à un médicament couplé à un anticorps ciblant le CD33. *Meyling CHEOK* (Projets Emergents 2018) (20') (p23)

17h40 - 18h30

Axe 1 : Médecine de précision des tumeurs solides (1ère partie)

Les perspectives de l'axe. (10')

- SENSARCOME: cibler la sénescence radio-induite pour prévenir les sarcomes en territoire irradié. *Corinne ABBADIE* (Projets Emergents 2019) (20') (p18)
- La voie de l'adénosine, une cible pour le traitement des chondrosarcomes. *Catherine BAUGE* (Projets Emergents 2019) (20') (p19)

18h30

Hommage au Pr Thierry Frebourg

20h00

Dîner de clôture de la deuxième journée

Enregistrement des participants dès 8h15

8h30 - 9h00

Café d'accueil

9h00 - 09h40

Axe 1 : Médecine de précision des tumeurs solides (2ème partie)

- Caractérisation d'une nouvelle famille de molécules permettant la correction de mutations non-sens pour restaurer l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs. *Fabrice LEJEUNE* (Projets Emergents 2019) (20') (p20)
- Rôle du long ARN non-codant UCA1 dans le caractère souche des cellules cancéreuses coliques; analyse d'une méthode monocellulaire pour caractériser la formation des tumoresphères. *Bernadette NEVE* (Projets Emergents 2019) (20') (p21)

9h40 - 10h15

Axe 5 : Cancers, individu et société

Les perspectives de l'axe (10')

- Pertinence et faisabilité de la prise en compte des inégalités sociales et territoriales de santé dans le cadre du PMSI et de la Tarification à l'Activité en cancérologie. (Projet Caliss). *Thomas VERMEULIN* (Projet Emergent 2019) (20') (p27)

10h15 - 10h45

Pause

10h45 - 12h30

Session thématisée « PLASTICITÉ CELLULAIRE ET CANCER »

Animée par Hélène Castel et David Tulasne

10h45 - 11h30

Rôle du cannibalisme cellulaire dans le traitement du cancer.
Dr. Jean-Luc PERFETTINI (Institut Gustave Roussy, Paris) (p14)

11h30 - 12h00

Autophagie et Cancer: de l'initiation tumorale aux processus invasifs.
Dr. Fabrice MORIN (DC2N- Inserm U1239, Rouen) (p15)

12h00 - 12h30

Emergence néoplasique post-sénescence : liens avec l'autophagie et l'apoptose
Pr. Corinne ABBADIE (Canther, Lille) (p16)

12h30 - 12h45

Remise des prix jeunes chercheurs

pour les trois meilleures Communications Orales
& les trois meilleurs Posters



Conclusion

Avec le soutien des laboratoires



PRÉSENTATION D'ONCOSTART par Lucia Robert



ENTREPRENDRE CONTRE LES CANCERS

SENSIBILISER
Mettre en valeur l'aventure entrepreneuriale appliquée à la cancérologie

FORMER
Former les entrepreneurs et les accompagner dans leur parcours de création

ACCÉLÉRER
Accompagner le développement des projets et optimiser l'accès aux réseaux d'intérêt

12 acteurs experts associent leurs forces et leurs réseaux pour soutenir l'entrepreneuriat dans la lutte contre les cancers !

Cancéropôle Grand ouest **cancéropôle Nord-Ouest** **canceropôle Provence-Alpes-Côte d'Azur** **CLARA** CANCÉROPOLE LYON AUVERGNE RHÔNE - ALPES

GUSTAVE ROUSSY CANCER CAMPUS GRAND PARIS **INSTITUT CARNOT CALYM** **INSTITUT CARNOT Curie Cancer** **INSTITUT CARNOT OPALE**

Cancer Campus VILLEJUIF | PARIS **Life Sciences Leadership School** **MATWIN** NATURATION & ACCELERATING TRANSLATION WITH INDUSTRY **unicancer**

Contactez l'équipe d'OncoSTART
www.oncostart.fr 05 35 54 19 36
contact@oncostart.fr

PRÉSENTATION DE GENEXPATH par Philippe Ruminy

Basée à Rouen, Genexpath développe, produit et commercialise des outils permettant d'aider à la caractérisation des cancers notamment les lymphomes et les sarcomes.

Les produits proposés permettent des gains de précision, de temps et de fiabilité importants pour les services d'anatomopathologie et de biologie moléculaire.

Produits

LymphoSign : La solution LymphoSign de Genexpath permet d'évaluer le stade de différenciation des cellules tumorales des lymphomes non-Hodgkiniens en pondérant les niveaux d'expression de l'ARN de plus de 130 marqueurs génétiques pertinents. Elle est applicable aux échantillons d'ARN de faible qualité extraits à partir de sections de biopsies FFPE obtenus en clinique. Les jeux de données d'expression génique sont générés à l'aide d'un séquenceur de nouvelle génération (NGS) et ne nécessitent que 10^5 reads par échantillon.

Ils sont ensuite traités à l'aide d'un classificateur dédié basé sur l'IA (RT-Mis) qui pondère la contribution des différents marqueurs par rapport à une base de données de plus de 1500 d'échantillons annotés représentatifs de l'hétérogénéité du LNH.

SarcomaFusion : La solution SarcomaFusion de Genexpath permet de détecter plus de 140 transcrits de fusion récurrents dans les sarcomes en un seul test in vitro. Basé sur une technologie brevetée de PCR dépendante de ligation, le test repose également sur une analyse informatique fine de fichiers de séquençage NGS.

Le traitement pharmacologique des sarcomes, étant souvent spécifique en fonction des fusions identifiées, la détection de ces fusions est donc primordiale pour adapter la prise en charge des patients.

GenerateReports : Outil bioinformatique qui facilite l'exploitation des données brutes issues du séquençage NGS au travers d'un rapport clinique dans lequel figurent notamment : les données d'identification de l'échantillon, les données de statistiques sur l'expérimentation, un tableau avec la liste des variations génétiques détectées et annotées, les résultats concernant les variations du nombre de copies de gène et les informations de traçabilité expérimentale et bio-informatique...

Une base de données associée permet également la consultation rétrospective des résultats à l'échelle d'un projet complet, d'une cohorte de patients, d'une expérimentation, d'un échantillon ou d'un variant. Des listes de variations peuvent être créées rendant ainsi possible la création de documents, de filtres personnalisés et certaines analyses automatisées.



Coordonnées

Genexpath, 113 avenue des martyrs de la résistance 76100 Rouen

Téléphone : 02 78 08 98 69

Mail : contact@genexpath.com

Site : www.genexpath.com

PRÉSENTATION D'HEMERION THERAPEUTIC par Maximilien Vermandel



A new modality to treat brain cancer

Hemerion Therapeutics is a clinical stage healthtech company, spin-off of the University of Lille, University Hospital of Lille and Inserm.

Hemerion develops a drug-device combination product capable of significantly improving outcomes, patients' survival and quality of life of certain cancer conditions.

Hemerion first breakthrough technology addresses glioblastoma, a brain condition with still unmet needs. This therapeutic solution is easy to implement and can be integrated into any upfront surgical procedure.

Our technologies have already been evaluated to treat brain cancer through a first-in-human clinical trial.

Contact:
Maximilien Vermandel – CEO
contact@hemerion.com
www.hemerion.com



PRÉSENTATION DE YES TECHNOLOGIES par Philippe Saudemont

Yes-Technologies est une jeune pousse qui sera créée pour la fin de l'année 2021.

Émanant du laboratoire PRISM Inserm U1192 de l'université de Lille.

Basé sur la technologie SpiderMass, ce futur dispositif médical utilise un laser, de la spectrométrie de masse et du machine learning.

Seules quelques secondes sont nécessaires entre un tir du laser et l'obtention du jumeau numérique du tissu analysé. Ceci permet son utilisation dans des contextes où le temps est primordial comme pendant les opérations chirurgicales en oncologie. Ce dispositif permettra de mieux caractériser les tumeurs pendant les opérations chirurgicales mais également de détecter les cellules cancéreuses qui seraient laissées dans l'organisme. Cela permettra de guider le geste du chirurgien mais également de fournir de nouvelles informations pour le médecin pathologiste. Le but est de réduire les reports d'intervention ou les secondes opérations liées à des rechutes, tout en améliorant le pronostic du patient et sa qualité de vie.



« Le prototype de laboratoire obtenu à la fin du programme de maturation de la SATT-Nord a été testé notamment par le Dr M. Pottier en bloc opératoire vétérinaire de la clinique Oncovet. »

Yes-Technologies aura pour objectifs d'industrialiser et commercialiser cette technologie avec pour but de devenir leader du diagnostic des cancer des tissus mou sur un marché mondial du diagnostic du cancer qui a été évalué à 146,2 milliards de dollars US en 2018 et devrait se développer de 8,8 % par an de 2019 à 2027.

Contacts :

- Dr. Philippe Saudemont – Futur CEO
philippe.saudemont@univ-lille.fr
- Pr. Isabelle Fournier – Inventrice & Porteuse du projet d'incubation
Isabelle.fournier@univ-lille.fr



Proteomic, Inflammatory Response, Mass Spectrometry (PRISM) Laboratory
INSERM U1192 – SN3, University of Lille
59655 Villeneuve d'Ascq Cedex

<http://laboratoire-prism.fr/>

RÔLE DU CANNIBALISME CELLULAIRE DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

Jean-Luc PERFETTINI^{1,2}

¹ Université Paris-Saclay, Inserm UMR1030, Laboratoire de Radiothérapie Moléculaire et d'Innovation Thérapeutique, Villejuif, 94805, France;

² Institut Gustave Roussy, Villejuif, 94805, France.



Malgré les nombreuses investigations visant à caractériser les processus biologiques impliqués dans l'efficacité des traitements du cancer, la capacité de ces traitements à déclencher des morts cellulaires non autonomes (MCNA) tels que le cannibalisme cellulaire n'avait jamais été analysée. Au moyen d'une méthodologie innovante basée sur l'utilisation de l'imagerie en flux, nous avons déterminé le devenir de cellules cancéreuses traitées avec des agents anticancéreux conventionnels (comme les rayonnements ionisants et le cisplatine) et avons révélé la capacité de ces agents à déclencher de façon simultanée des processus de mort cellulaire autonome (MCA) ainsi que des MCNA, soulignant ainsi l'hétérogénéité des processus de mort cellulaire déclenchés par les traitements du cancer. Lors de la caractérisation des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans le déclenchement du cannibalisme cellulaire, nous avons également (i) identifié une nouvelle fonction pour la protéine suppressive de tumeur p53 dans la modulation du cannibalisme cellulaire, (ii) déchiffré les voies de signalisation impliquées dans l'exécution de ce processus létal atypique et (iii) identifié des liens insoupçonnés entre MCNA et la sénescence cellulaire. Globalement, nos travaux de recherche soulignent l'absolue nécessité de mieux appréhender la complexité des processus létaux mis en œuvre à la suite des traitements du cancer.

Jean-Luc PERFETTINI est directeur de recherche à l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) et est l'un des codirecteurs de l'unité INSERM UMR 1030 de Radiothérapie Moléculaire et d'Innovation Thérapeutique. Jean-Luc PERFETTINI développe actuellement un programme de recherche intégrative dans le domaine de la radio-oncologie qui vise à caractériser les modalités de mort cellulaire et de sénescence induites par la radiothérapie, à développer des modèles murins précliniques pour étudier les réponses immunitaires induites par les traitements anticancéreux, et à identifier des thérapies innovantes afin d'améliorer l'efficacité des traitements du cancer. Jean-Luc PERFETTINI est un expert internationalement reconnu dans le domaine des processus de mort cellulaire et de l'immunité innée (notamment en ce qui concerne leurs rôles dans le traitement des infections microbiennes et du cancer), et est l'auteur de plus de 70 publications (dont des articles dans Nat Immunol, Nat Med, Nat Cell Biol, J Exp Med, Cell Death Differ and Cell Rep). Il a également déposé des brevets liés à la modulation des processus de mort cellulaire (6 brevets) et de la réponse immunitaire innée (4 brevets), et est l'un des membres fondateurs de la société biopharmaceutique Findimmune qui est spécialisée dans le développement des thérapies anticancéreuses et immunitaires.

AUTOPHAGIE ET CANCER : DE L'INITIATION TUMORALE AUX PROCESSUS INVASIFS

Fabrice Morin¹, Daniele Campisi¹, Laurence Desrues¹, Renaud Parment¹, Pierrick Gandolfo¹, Hélène Castel¹

¹Inserm U1239, Laboratoire « Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine » (DC2N), IRIB, Université de Rouen-Normandie, France

L'autophagie est un processus catabolique impliqué dans la dégradation du matériel cellulaire par la voie lysosomale. Ce mécanisme débute par la séquestration de constituants cytoplasmiques par une structure multi-membranaire appelée phagophore. La fermeture du phagophore donne naissance à une vésicule à double membrane nommée autophagosome, qui fusionne alors avec les lysosomes, afin d'engendrer la dégradation du contenu de sa lumière. Ce mécanisme de recyclage du matériel cytosolique constitue une source d'énergie essentielle au maintien de l'homéostasie cellulaire.

Durant cette dernière décennie, de nombreux travaux ont permis d'illustrer un lien étroit entre l'autophagie et le cancer. L'autophagie semble exercer des effets opposés, en fonction du stade tumoral. Ainsi, de nombreuses études indiquent que l'activité autophagique est primordiale à l'intégrité du génome, et constitue un frein à l'initiation tumorale. A l'inverse de cette fonction anti-tumorale, l'autophagie semble, au sein des tumeurs « établies », exercer un effet pro-tumoral. C'est notamment le cas des tumeurs solides, au sein desquelles les cellules sont exposées à un stress métabolique, du fait de la faible vascularisation qui limite l'apport en nutriments et en oxygène. Dans ce contexte, les cellules cancéreuses dépendraient alors du processus autophagique afin de faire face à leurs besoins métaboliques et de maintenir leur homéostasie énergétique.

L'impact fonctionnel de l'autophagie sur la migration chimiotactique, à l'origine de l'invasion tumorale et des processus métastatiques, reste en revanche extrêmement controversé. Notre équipe a ainsi entrepris de tester l'implication de l'autophagie dans la migration des cellules de glioblastomes (GBM), particulièrement invasives. Des études menées *in vitro* sur différentes lignées de GBM humains, nous ont permis de démontrer que l'activation de différents types de récepteurs chimiotactiques provoque une réduction marquée de la biogénèse des autophagosomes à partir de leur structure précurseur, le phagophore. Par des analyses en vidéo-microscopie *time-lapse*, nous montrons que les vésicules pré-autophagiques, normalement dédiées à l'expansion du phagophore, sont, sous l'effet d'une stimulation chimiotactique, réorientées vers le front de migration afin d'y apporter les lipides et protéines d'adhésion nécessaires à l'expansion du lamellipode. La déplétion de la protéine ATG9A, essentielle à la genèse des vésicules pré-autophagiques, conduit ainsi à la production de lamellipodes anormaux, et abolit totalement la migration directionnelle des cellules de GBM. Ces travaux mettent en lumière une nouvelle fonction de la protéine ATG9A, ainsi qu'un lien fonctionnel étroit entre la machinerie autophagique et la migration cellulaire, et pourraient permettre d'envisager des cibles thérapeutiques innovantes dans le traitement des gliomes de haut grade.



Dr Fabrice Morin est Maître de Conférences, à l'Université de Rouen, Section CNU 66 (Physiologie). Ses travaux de thèse et post-doctoraux, menés dans le domaine de la chronobiologie au sein de l'Université de Poitiers puis aux National Institutes of Health (NIH, Bethesda, USA) avaient pour objet la compréhension des mécanismes moléculaires contrôlant la sécrétion circadienne de mélatonine par l'organe pinéal.

Ses recherches actuelles, poursuivies à l'Université de Rouen (Inserm U1239, Dir. Y. Anouar), dans l'équipe « Astrocytes et niche vasculaire » (resp. H. Castel), visent à élucider les mécanismes moléculaires participant aux processus invasifs des gliomes de haut grade. Nous cherchons notamment à préciser les cascades de signalisation engagées, au sein des cellules cancéreuses, par l'activation des récepteurs chimiotactiques. Nous avons ainsi démontré un rôle essentiel d'une modulation de l'activation autophagique par ces récepteurs dans la formation des adhésions cellule/matrice extracellulaire et la migration directionnelle.

EMERGENCE NÉOPLASIQUE POST-SÉNESCENCE : LIEN AVEC L'AUTOPHAGIE ET L'APOPTOSE

Corinne Abbadie

CANTHER - Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU de Lille, Institut Pasteur de Lille
UMR9020-U1277



La sénescence cellulaire est un état atteint avec le temps et après un nombre fini de divisions cellulaires. Elle survient au cours du vieillissement de l'organisme, ou de façon prématurée, suite à un stress. Elle est facilement récapitulée en culture in vitro. Elle est activée en réponse au raccourcissement télomérique, au stress oxydant, à l'accumulation de dommages à l'ADN et à d'autres composés cellulaires, ou à l'activation d'oncogènes tels que Ras ou NF-kappaB. La sénescence se manifeste par un arrêt dans le cycle cellulaire via l'activation des voies p53/p21 et/ou p16/Rb, par des changements épigénétiques, des changements de transcriptome, protéome, sécrétome, par une augmentation de la taille des cellules, et par une augmentation d'activité autophagique 4.

Nous travaillons dans l'équipe sur les mécanismes de sénescence de deux types cellulaires : les fibroblastes et les kératinocytes humains normaux de peau (NHDF et NHEK respectivement)^{10,12-20}. En culture in vitro, les NHDF effectuent une phase de croissance exponentielle suivie d'un plateau de sénescence, extrêmement stable, associé à des télomères très raccourcis qui induisent une signalisation DDR (DNA Damage Response) persistante et un arrêt irréversible dans le cycle cellulaire. Les NHEK effectuent également une phase de croissance exponentielle suivie d'un plateau de sénescence, mais ce dernier n'est pas stable et conduit à deux devenir cellulaires différents. Le devenir principal est la mort cellulaire qui affecte la quasi-totalité des cellules. L'autre devenir possible concerne environ 1 cellule sur 10 000 qui échappe à cette mort, réentre dans le cycle et génère des clones de cellules proliférantes. Nous avons montré que les cellules post-sénescences sont transformées, mutées et tumorigènes. Je présenterai en quoi et comment l'apoptose et l'autophagie interviennent dans les cellules sénescences et déterminent leur devenir.

Biographie

Corinne Abbadie est Professeur de Biologie cellulaire à l'Université de Lille. Elle est responsable de l'équipe « Sénescence, Fibrose et Cancer » dans l'unité CANTHER (Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU de Lille, Institut Pasteur de Lille – UMR9020-U1277 (www.canther.fr)). Elle est également Présidente du Comité scientifique de la Ligue régionale contre le cancer, Région Hauts-de-France Elle a été Directrice du Master Biologie et Biotechnologies de l'Université Lille 1 (2008-2012) et Directrice adjointe de l'UFR de Biologie de l'Université Lille 1 (2012-2016).

Ses travaux de recherche ont porté sur la régulation transcriptionnelle au cours du développement embryonnaire, sur le contrôle de l'apoptose par les facteurs de transcription de la famille NF-kappaB et sur le rôle de l'apoptose au cours du développement embryonnaire et lors de la différenciation des thymocytes. Plus récemment, elle a travaillé sur le rôle du stress oxydant et du dommage à l'ADN dans la sénescence cellulaire et dans la transformation néoplasique par échappement de la sénescence, ainsi que sur le rôle de l'autophagie dans le devenir des cellules sénescences.

Présentation des travaux de recherche financés dans le cadre de l'Appel à Projets EMERGENTS du Cancéropôle Nord-Ouest



ÉMERGENCE

FAVORISER L'ÉMERGENCE DE PROJETS INNOVANTS ET DE NOUVELLES THÉMATIQUES

- Prendre des risques scientifiques (hypothèses originales, approche translationnelle),
- Explorer des voies novatrices de recherche, valider la faisabilité ou la méthodologie d'un futur programme de recherche,
- Mettre en place de nouvelles collaborations, mobiliser de nouvelles approches,
- Permettre à un projet de prétendre par la suite à un appel à projet national.

95 projets financés (2012-2021)
(33 % retenus)

20 K€ par projet

1,6 M€ investis

EFFET LEVIER

Presque 5 M€ obtenus par la suite



Projet émergent 2019 Cancéropôle Nord-Ouest

Corinne ABBADIE

SENSARCOME : cibler la sénescence radio-induite pour prévenir les sarcomes en territoire irradié.

Erwan GOY¹, Nathalie MARTIN¹, Emmanuel BOUCHAERT², Jérôme BENOIT³, Eric LARTIGAU⁴, Nicolas PENEL⁴ et Corinne ABBADIE¹

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER – Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Oncovet Clinical Research, Plateforme PRECI, F-59120 Loos, France

³ Oncovet, Plateforme PRECI, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

⁴ Lille University, Medical School and Centre Oscar Lambret, Lille, France

En France, environ la moitié des patients atteints d'un cancer est traitée par radiothérapie. Ce traitement repose sur la génération de dommages à l'ADN létaux pour les cellules cancéreuses. Paradoxalement, comme les dommages à l'ADN sont mutagènes, une complication sévère de la radiothérapie est le développement de seconds cancers. Ces seconds cancers ne sont ni une récurrence du cancer initial, ni une métastase, mais sont nouvellement formés probablement à partir de cellules normales touchées par les radiations ionisantes. Parmi ces cancers secondaires, nous nous sommes focalisés sur les sarcomes qui sont très rares (taux de prévalence de 0.14 à 0.20%), mais de très mauvais pronostic, avec une survie à 5 ans de seulement 10 à 40%.

De façon assez surprenante, ces sarcomes secondaires se développent préférentiellement non pas dans le volume ciblé pour le traitement par radiation ionisante (le PTV), mais en bordure de celui-ci, sur une distance de quelques centimètres. En radiothérapie conformationnelle 3D utilisant des rayons X externes, la région autour d'un faisceau reçoit des photons fuyant des collimateurs, du filtre, ainsi que des photons diffusant dans le patient. Ces derniers ont été montrés être à l'origine de l'essentiel de la dose déposée hors champ. Cette dose décroît avec la distance et est déposée par ces photons diffusés dont le spectre d'énergie shifté vers les énergies faibles. L'objectif principal du projet était de déterminer le type de dommage à l'ADN généré par ces photons hors champ et d'étudier si ces dommages pouvaient être à l'origine du développement d'un sarcome.

Les rayons X induisent, entre autres dommages, des cassures simple- et double-brin de l'ADN (SSB et DSB respectivement). Les DSB sont signalisées par la voie « DNA Damage Response (DDR) » ce qui active en aval le suppresseur de tumeur TP53 qui induit l'apoptose ou un arrêt transitoire du cycle cellulaire favorisant la réparation. Les SSB quant à elles sont beaucoup moins létales, mais une irradiation 1 Gy en génère 10 à 25 fois plus. Au démarrage de notre projet, rien n'était connu sur les quantités respectives de DSB et SSB générées en marge du PTV.

Une autre particularité des cancers secondaires est leur long délai d'apparition, entre 1 et 40 ans après la thérapie initiale. Ceci nous a amené à faire l'hypothèse que les cellules affectées par la dose hors champ pourraient rester dormantes dans l'organisme de longues années et que cet état de dormance pourrait correspondre à de la sénescence, un état d'arrêt dans le cycle cellulaire associé à une résistance à l'apoptose.

Ainsi, en collaboration avec le service de radiothérapie du Centre Oscar Lambret (Pr Eric Lartigau et Thomas Lacornerie), nous avons mis au point un système expérimental permettant d'irradier des fibroblastes placés dans le PTV ou en bordure de celui-ci, jusqu'à 5 cm de distance. Les fibroblastes ont été irradiés en mimant un protocole thérapeutique couramment appliqué aux patients, soit 2Gy par jour, sauf les week-ends. Nos résultats indiquent que les cellules placées dans le PTV subissent, comme décrit dans la littérature, à la fois des DSB et des SSB et meurent, alors que celles placées en marge du PTV subissent uniquement des SSB et entrent en sénescence. De plus, nous avons montré que quelques-unes de ces cellules sénescents étaient capables de réentrer dans le cycle cellulaire pour générer des cellules mutées et partiellement transformées.

La suite du projet consistait à vérifier ces résultats dans un modèle de souris p16-LUC permettant de suivre la sénescence sur animal vivant en temps réel. En collaboration avec le Dr Benoit de la clinique vétérinaire Oncovet, nous avons mis au point un système expérimental permettant de ne soumettre les souris qu'aux photons diffusant dans la matière vivante. Nous avons ainsi pu confirmer que ces photons diffusés induisaient des SSB mais pas de DSB. Nous avons aussi des résultats préliminaires qui devront être confirmés montrant que ces photons diffusés sont suffisants pour induire de la sénescence.

Ces résultats in vitro et in vivo suggèrent donc que la dose déposée hors champ soit suffisante pour générer dans les cellules normales des SSB et un état sénescents. Les cellules ainsi modifiées pourraient persister dans l'organisme puis évoluer vers une transformation cancéreuse. Au-delà de consolider ces résultats, les perspectives sont de tester si éliminer ces cellules sénescents par des traitements sénolytiques permettrait de prévenir le développement de seconds cancers (contrat INCA PLBio obtenu pour cela).

Mots clés : radiothérapie, sarcomes, dommages à l'ADN, sénescence, sénolytiques



Projet émergent 2019 Cancéropôle Nord-Ouest

Catherine BAUGE

La voie de l'adénosine, une cible pour le traitement des chondrosarcomes.

Juliette AURY-LANDAS*, Marion Lenté*, Karim Boumédiène, Catherine Bauge

* : contribution égale

EA7451 BioConnect, UNICAEN, Normandie univ., Caen, France

Le chondrosarcome est le deuxième cancer des os. Il touche généralement les adultes entre 30 et 70 ans. Cette tumeur étant radio- et chimio-résistante, son traitement repose exclusivement sur la chirurgie, ce qui peut avoir de graves conséquences fonctionnelles pour le patient. Identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pourrait permettre d'améliorer sa prise en charge. Pour ce projet, l'objectif principal est de tester si des analogues de l'adénosine, des inhibiteurs de la 5-Adénosylhomocystéine hydrolase (SAHH), ou des agonistes/antagonistes des récepteurs à l'adénosine, dont certains sont déjà utilisés chez l'homme pour différentes pathologies, pourraient avoir des propriétés pro-apoptotiques dans les chondrosarcomes et donc devenir une nouvelle approche thérapeutique pour le traitement de ces tumeurs osseuses.

Deux analogues de l'adénosine ont été testés sur plusieurs lignées de chondrosarcomes. La survie et l'apoptose ont été évaluées par mesure de l'ATP, par comptage cellulaire et par cytométrie par images (annexin V/iodure de propidium). L'expression des récepteurs à l'adénosine et des enzymes SAHH et adénosine désaminase (ADA) a été recherchée par RT-PCR. Leur activité a ensuite été modulée à l'aide d'agonistes, d'antagonistes ou d'inhibiteurs.

Les analogues de l'adénosine testés réduisent nettement la survie des chondrosarcomes et induisent l'apoptose de ces cellules. Cette réduction de la survie cellulaire est obtenue pour des concentrations nettement plus faibles pour toutes les lignées de chondrosarcomes que pour les chondrocytes (cellules non tumorales), suggérant que les analogues de l'adénosine pourraient être de nouveaux outils thérapeutiques pour le traitement de ces tumeurs osseuses. Bien que les chondrosarcomes expriment certains récepteurs à l'adénosine, des agonistes ou antagonistes de ces récepteurs ne modifient pas la survie de ces cellules tumorales. De même, la survie des chondrosarcomes ne semble pas dépendante de l'ADA. En revanche, nous confirmons que les chondrosarcomes expriment SAHH et que son inhibition diminue la survie de ces cellules.

Ainsi, nos résultats suggèrent que certains analogues de l'adénosine pourraient être de nouveaux outils thérapeutiques pour le traitement des chondrosarcomes. Cependant des tests *in vivo* sont nécessaires pour confirmer ces effets, et les mécanismes moléculaires mis en jeu reste à élucider. Des travaux supplémentaires réalisés dans le cadre de ce programme émergent nous ont permis d'identifier d'autres molécules capables d'induire la mort des chondrosarcomes par apoptose. Certaines de ces molécules sont actuellement utilisées pour le traitement d'autres maladies suggérant qu'il pourrait faire l'objet d'un repositionnement. Cette stratégie est à l'étude avec le service valorisation de Normandie Université et pourrait faire l'objet d'un brevet.

Mots clés : chondrosarcomes, tumeurs osseuses, tumeurs rares, apoptose, adénosine, repositionnement de médicament

NOTES



Projet émergent 2019 Cancéropôle Nord-Ouest

Fabrice LEJEUNE

Caractérisation d'une nouvelle famille de molécules permettant la correction de mutations non-sens pour restaurer l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs.

Fabrice Lejeune¹, Anne Sophie Voisin-Chiret² and Peggy Suzanne²

¹ Univ. Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France;

² Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie (CERMN) - EA 4258 FR CNRS 3038 INC3M - SF 4206 ICORE - Tremplin Carnot I2C - UFR de Santé - Faculté de Pharmacie Université de Caen Normandie - Bd Becquerel CS 14032 Caen cedex 5, FRANCE

Les mutations non-sens transforment un codon en un arrêt prématuré de la traduction et sont retrouvées dans 5 à 40% des mutations affectant les gènes suppresseurs de tumeurs. Par exemple, environ 6% des mutations trouvées dans le gène TP53 ou 40% des mutations touchant le gène APC sont des mutations non-sens, tous cancers confondus. Contrairement à ce qu'on pourrait imaginer, la conséquence d'une mutation non-sens n'est pas la synthèse d'une protéine tronquée mais plutôt l'absence d'expression du gène mutant du fait de l'implication d'un mécanisme de contrôle qualité appelé NMD (nonsense-mediated mRNA decay). Certaines molécules ont la capacité de contourner ce mécanisme de NMD et permettre la synthèse d'une protéine tronquée voire de taille sauvage si elles induisent ce qu'on appelle la translecture des codons stop prématurés.

Depuis de nombreuses années, nous recherchons par criblage des molécules permettant la réexpression de gènes porteurs de mutations non-sens qui permettraient d'élaborer une approche thérapeutique de cancers liés à l'absence d'expression de gènes suppresseurs de tumeurs causés par une mutation non-sens. Notre projet avait pour ambition d'exploiter la chimiothèque du CERMN composée d'environ 10 000 molécules originales, en la criblant au moyen de constructions transfectées dans des cellules reliant une activité luciférase à une correction de mutations non-sens. Nous avons ainsi pu identifier une quinzaine de hits proches d'un point de vue structurel laissant penser que nous avons identifié une famille de molécules capables de corriger des mutations non-sens.

Nous présenterons les différentes étapes de ce criblage et les résultats originaux obtenus après l'étape de validation avant de conclure qu'on trouve parfois la lumière là où on ne s'y attendait pas.

Mots clés : criblage, mutations non-sens, gènes suppresseurs de tumeurs, approche thérapeutique

NOTES



Projet émergent 2019 Cancéropôle Nord-Ouest

Bernadette NEVE

Rôle du long ARN non-codant UCA1 dans le caractère souche des cellules cancéreuses coliques ; analyse d'une méthode monocellulaire pour caractériser la formation des tumorsphères.

Bernadette NEVE, Deniz PEKIN, Mouloud SOUIDI, Audrey VINCENT et Isabelle VAN SEUNINGEN

Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

With the aid of the Cancéropôle Nord-Ouest, we invested in the optimal method to perform a single cell sphere-formation assay that could be a high-throughput standard for evaluating *in vitro* cancer stem cell plasticity. Cellular 3D-spherical models have been used in the cancer research field as an *in vitro* intermediate model between 2D cell line culture and *in vivo* xenograft transplantation of cancer cells in immunocompromised mice. Often multi-cellular sphere cultures do not exclude that the observed spheres are a result of cell aggregation and the merging of spheres is clearly evidenced by the multi-lobular shapes frequently observed. Our own analysis with CRISPR/Cas9-modified HT29 cells having a long ncRNA UCA1 invalidation also showed that sphere formation originated from cell aggregates and spontaneous fusion among spheres. Therefore, we analyzed different methods to perform a single cell sphere-formation assay. In particular, we analyzed single cell capture by a microfluidic droplet generating device and analyzed the formation of spheres in these drops by culturing them using several methods. Although we successfully realized single-cell sphere cultures, more optimization is needed to facilitate the method for high-throughput analysis.

We aim to use the single cell sphere-formation assay to screen a CRISPR/Cas9-based lentiviral library targeting deletion of individual long ncRNA exons. To validate this approach, we used HT29-iCas9-UCA1 delta Exon 1 and Exon 2 clonal cells. Basal UCA1 transcript expression in these cells was observed to be very low; however it increased in control cells upon cancer therapy drug 5-Fluorouracil treatment. Whereas, in both the delta UCA1 clones the expression remained very low. Subsequent RNA-sequencing analysis showed that all UCA1 transcripts were absent in cells without exon 1, but cells lacking exon 2 still expressed alternative transcripts. Indeed, our approach rendered unique information on the function of individual exons and we could distinguish general and exon 2-specific UCA1 targets. Furthermore, our single-cell sphere formation analysis showed that UCA1 affects the stem cell phenotype of colorectal cancer cells.

Acknowledgements: We would like to acknowledge the technical assistance of Emilie Floquet and Nathalie Jouy of the BICeL-UMS2014-US41 platform, and Amandine Legrand and Nail Bouzalmad for their undergraduate research assistance. This work was supported by the "Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale" (Inserm), "Centre National de la Recherche Scientifique" (CNRS) and the "Cancéropôle Nord-Ouest" (Bourse Emergence 2019).

Mots clés : Tumorsphères, cell plasticity

NOTES



Projet émergent 2018 Cancéropôle Nord-Ouest

Meriem BEN KHOUD

Caractérisation des lymphocytes T dits « épuisés » dans un modèle murin de leucémie aiguë myéloïde et détermination de leurs spécificités envers la protéine WT1 avant et après traitement par chimiothérapie.

Dr BRINSTER Carine et sa doctorante BEN KHOUD Meriem

CANTHER « Hétérogénéité, Plasticité et Résistance aux Thérapies des Cancers », UMR 9020-UMR-S1277 INSERM

Introduction : Les leucémies aiguës myéloïdes (LAMs) sont des hémopathies malignes qui touchent 3 personnes sur 100 000 en France par an et dont l'âge moyen de diagnostic est supérieur à 60 ans. Le traitement des LAMs se résume en l'utilisation de molécules de chimiothérapies (cytarabine et anthracyclines) ou de greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Les LAMs se caractérisent par un arrêt de la différenciation et une prolifération accrue des progéniteurs ou des précurseurs hématopoïétiques (blastes) des différentes lignées myéloïdes. Ces blastes s'accumulent dans la moelle osseuse et le sang des patients. Des études récentes effectuées chez ces patients ont révélé une immunodéficience quantitative et qualitative des lymphocytes T, caractérisé par une diminution ou un arrêt de leurs activités. Cela leur vaut le nom de lymphocytes T épuisés (TEX). Le phénotype épuisé est dû à une stimulation antigénique continue par des blastes leucémiques. Dans cette étude, Nous nous sommes intéressés à la protéine Wilm's tumor 1(WT1) (un des antigènes connus comme très surexprimé dans les blastes des patients atteints de LAMs) et aux LTs CD8+ spécifiques à cette protéine chez un modèle murin LAM.

Méthodes : La rate et la Moelle osseuse des souris femelles syngéniques C57BL/6J rendues LAM ont été prélevées et une analyse par cytométrie en flux et par ELISA a permis de caractériser phénotypiquement et fonctionnellement les lymphocytes T épuisés.

Résultats : Nous avons caractérisé le phénotype des cellules T CD8+ ce qui nous permis de montrer qu'elles surexprimées le récepteur d'inhibition PD-1 seul ou en présence d'autres récepteurs d'inhibitions comme Tim3, Lag3 et TIGIT chez notre modèle murin ; expliqué par la présence de plusieurs stades de populations T CD8+ épuisées dont 40% expriment le facteur de transcription T-bet, un marqueur d'épuisement partiel. Nous nous sommes intéressé, ensuite, à la prolifération de l'ensemble de la population épuisés CD8+ PD-1+ chez notre modèle murin. Nous avons montré qu'elles prolifèrent après activation par des concentrations élevées d'anticorps anti-CD3 et anti-CD28, in vitro, validant ainsi le phénotype partiellement épuisé mais paradoxalement qu'elles diminuent significativement leurs productions de l'interleukine-2 (IL-2) et l'interféron- γ (IFN- γ) et qu'elles sont très sensibilisées à la mort. Une diminution ou une perte progressive de leurs activités décrites dans la littérature chez les patients atteints de LAMs. Pour finir, Nous avons analysé la spécificité des lymphocytes CD8+ PD1+ à différents épitopes de l'antigène WT1 en présence ou non d'un anticorps anti-PD-1. Les résultats ont montré que le blocage de PD-1 permettait une meilleure lyse des cellules présentant l'antigène et que l'épitope SCLSQPTI contribue le plus à la reconnaissance de l'antigène WT1 par les cellules T CD8+ PD1+ murins. Les résultats de la caractérisation phénotypique et fonctionnelle des lymphocytes T CD8+ chez notre modèle murin, nous a permis d'envisager le traitement des souris LAM par des doses de cytarabine. Nous avons constaté à l'issue de 3 jours de traitement (une dose de cytarabine/jour) une meilleure survie de notre modèle qui passe de 30 jours en moyenne à 40-50 jours après injection. Conclusion : Notre modèle murin LAM, nous a permis de caractériser phénotypiquement et fonctionnellement les lymphocytes T CD8+ épuisés et de mettre en évidence le fait qu'un épitope peut participer au degré de l'épuisement des lymphocytes T ce qui sera de très grande importance dans la stratégie des futurs traitements contre les LAMs.

Mots clés : LAM, WT1, TEX, PD-1, récepteurs d'inhibition, épitope



Projet émergent 2018 Cancéropôle Nord-Ouest

Meyling CHEOK

Analyse unicellulaire de l'hétérogénéité de la leucémie pour déchiffrer la réponse *in vivo* à un médicament couplé à un anticorps ciblant le CD33.

BARTHÉLÉMY A.¹, LEBRIGAND K.², PEYROUZE P.¹, MAGNONE V.², WALDMANN R.², ROUMIER C.¹, PREUDHOMME C.¹, BARBRY P.², CHEOK M.¹

¹UMR9020 CNRS - UMR-S1277 Inserm - CHU de Lille - Univ. Lille,

²IPMC Nice - CNRS/UNSA UMR7275

Background : Acute myeloid leukemia (AML) is inherently heterogeneous and therapy induces clonal- selection and evolution. Gemtuzumab ozogamicin (GO) is an anti-CD33 immunoconjugate re-approval by the FDA in 2017 as first-line treatment of acute myeloid leukemia (AML). Further improvement of efficacy, underscores the need for reliable predictive markers of GO response. Characterization of the different leukemia subpopulations and gene pathways in particular linked to known GO response parameters at the single-cell level vs. bulk may lead to better understanding and improvement of GO response in both adult- and pediatric AML.

Material and methods : We have performed xenoengraftment of primary AML in immunocompromised NSG mice (PDX). Subsequently, secondary or tertiary xenografts were treated with standard chemotherapy or standard chemotherapy in association with GO. In addition, we have derived GO- and chemo-resistant AML cell line models to identify specific drug resistant populations capable to escape therapy. We have used flow cytometry and single cell RNA/DNA sequencing to analyze AML specific transcripts/mutations before and after drug treatment using these *in vitro* and *in vivo* models.

Preliminary results : (1) CD33, the target of GO is heterogeneously expressed within the AML blast population. (2) Drug resistant subpopulations are distinct between samples and between models.

Perspectives : We are now assembling and completing these preliminary rather technical results to assess potential for better prediction of good GO response.

Mots clés : *antibody-drug-conjugate, acute myeloid leukemia, single-cell sequencing*

NOTES



CENTRE HENRI BECQUEREL

L'imagerie multi-modale par tomographie par émission de positons (TEP)/ Tomodensitométrie (TDM) est la modalité d'imagerie la plus utilisée pour le diagnostic et le suivi des patients en oncologie. Les images obtenues par cette méthode offrent une cartographie à la fois de la densité des tissus (modalité TDM) mais également une information sur l'activité métabolique des lésions tumorales (modalité TEP). L'analyse plus approfondie de ces images acquises en routine clinique, permet d'extraire des informations supplémentaires quant à la survie du patient ou à la réponse au(x) traitement(s). Toutes ces nouvelles données permettent de décrire le phénotype d'une lésion de façon non invasive et sont regroupées sous le terme de radiomics. Mais malgré tous les efforts de la communauté médicale et scientifique durant ces dernières années force est de constater que l'analyse radiomics n'est pas encore un outil utilisé en routine.

Actuellement, l'analyse radiomics des images de la tumeur s'appuie principalement sur des caractéristiques images en 3 dimensions explicitement définies d'un point de vue mathématique (caractéristiques de texture par exemple) mais médicalement difficile à appréhender. La « signature » radiomics d'une tumeur regroupant plusieurs caractéristiques images les plus prédictives (ou pronostiques), elle, est donc pour l'instant relativement abstraite. De plus, l'analyse radiomics actuelle souffre de nombreux biais. Ils sont notamment liés à la variabilité de la segmentation de la tumeur, la variabilité des conditions d'acquisitions, de reconstructions des images et à la diversité des classifieurs qui permettent de sélectionner les bonnes caractéristiques images. Les analyses de ce type sont effectuées sur des bases de données relativement faible d'un point de vue apprentissage machine (<500 patients) ne permettant pas d'atteindre des indices de prédiction suffisamment puissantes (<75%). Elles sont souvent mono-centriques, effectuées avec les mêmes modalités d'imagerie. Ces différents verrous ne permettent pour l'instant pas à l'analyse radiomics de pouvoir être utilisés en routine clinique et d'entrer véritablement dans le champ de la médecine personnalisée.

Nous souhaitons développer un nouveau paradigme d'analyse des images multimodales de la tumeur en utilisant exclusivement de bout en bout de la chaîne des techniques d'apprentissage profonds 3D. La technique principalement mise en œuvre, est l'utilisation des réseaux de neurones convolutifs. Nous souhaitons lever les différents verrous de l'analyse radiomics actuelle et aussi développer de nouvelles méthodologies permettant de faire véritablement émerger la radiomics dans le cadre de la routine clinique:

- Infléchir les variabilités et biais de l'analyse radiomics (segmentation, conditions d'acquisition/reconstruction, faible base de données, etc...) en se basant sur les derniers travaux d'intelligence artificielle (transfert d'apprentissage entre réseaux convolutifs, réseaux de neurones génératifs, apprentissage distribué)
- Rendre explicite la décision algorithmique de l'analyse radiomics par des réseaux de neurones.
- Développer au sein du CHB une infrastructure informatique distribuée, permettant l'ingestion (mise en œuvre de pipeline de données impliquant requêtes/anonymisation/nettoyage) des données ainsi qu'une infrastructure de calcul parallèle (GPU) dédiée à l'apprentissage profond.
- Proposer une méthodologie unique permettant une exploitation de 100% des images multimodales pour améliorer les modèles radiomics de manière journalière.

Ce projet ambitieux pour l'imagerie nécessite au préalable une phase d'initialisation et de développement d'une synergie chercheurs / médecins et Directions des Systèmes d'Information (DSI). Le présent projet consiste principalement dans le financement d'un serveur de calcul dédié à l'apprentissage profond en imagerie qui sera installé dans le Centre Henri Becquerel.

Mots clés : radiomics, biomarqueurs de l'image, TEP/TDM, Intelligence artificielle, réseaux de neurones profonds



Projet émergent 2019 Cancéropôle Nord-Ouest

David PASQUIER

Etude de faisabilité de la constitution d'une base de données prospective multi-modalités et multicentrique en vue de l'analyse Radiomics chez des patients traités par radiothérapie stéréotaxique pour une tumeur hépatique. Etude ancillaire STEREO LIVER.

D. PASQUIER ^{1,2}, J. THERY ³, A. ESCANDE ^{1,2}, X. MIRABEL ¹, E. LARTIGAU ^{1,2}

¹ Pôle de Radiothérapie, Centre O. Lambret

² CRISTAL UMR 9189, Université de Lille

³ Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation, Centre O. Lambret

Rationnel

Les Radiomics permettent une analyse qualitative et quantitative consistant en l'extraction à haut débit de données numériques d'imagerie médicale afin d'obtenir des informations prédictives et/ou pronostiques. Un préalable obligatoire à la validation de ces méthodes est la constitution de bases de données robustes, prospectives et multicentriques. A ce jour aucune donnée prospective n'a été publiée chez des patients traités par radiothérapie stéréotaxique (RTS) pour une néoplasie hépatique. Les objectifs de cette étude ancillaire sont d'évaluer la faisabilité d'une base de données multi-modalités prospective multicentrique chez des patients traités par RTS, l'harmonisation des données, puis d'évaluer l'association entre les données Radiomics (\pm Delta Radiomics précoce pour l'IRM) et le contrôle de la pathologie néoplasique. L'IRM est un examen non normalisé, et nécessite une normalisation à posteriori dans le cadre d'une étude multicentrique.

Matériels et Méthodes

Cette étude ancillaire s'appuie sur la phase II multicentrique STEREO LIVER (NCT03408665) évaluant la RTS pour une néoplasie hépatique : carcinome hépatocellulaire, métastases hépatiques, cholangiocarcinome. L'objectif principal est d'estimer l'efficacité de la RTS en termes de survie sans progression locale. L'étude de la survie globale, de la survie sans progression et de la toxicité font partie des objectifs secondaires. Après un amendement du protocole et accord de l'ANSM et du CPP, les données d'imagerie TDM et IRM sont récupérées auprès des centres. Une analyse Radiomics préliminaire a été réalisée sur la plateforme LIFEx.

Résultats

Ce travail a permis de colliger les données d'imagerie pré thérapeutiques chez 58 patients, dont 30 pour lesquels les données post thérapeutiques précoces sont également disponibles. Les fichiers associés (DICOM-RT STRUCT) correspondant à la délimitation des volumes d'intérêt ont également pu être récupérés de façon multicentrique. Une analyse de type Radiomics a pu être réalisée chez les premiers patients inclus, à la fois pour les données pré et post thérapeutiques précoces. Cette analyse a permis d'extraire les paramètres de premier ordre, et les paramètres de textures (de second ordre). L'étude se poursuit et les données Radiomics n'ont pas été à ce stade corrélées aux résultats cliniques. Les données collectées seront utilisées dans le cadre d'une thèse de sciences portant sur la normalisation des examens d'IRM. Différentes méthodes d'harmonisation seront comparées.

Conclusion Ce projet a permis de montrer la faisabilité de la constitution d'une base de données d'imagerie prospective multi modalités et multicentrique, et de son utilisation pour une analyse de type Radiomics. Son implémentation se poursuit en vue de l'étude finale. Cette étude est la seule étude prospective promue par le Centre O. Lambret qui comporte un recueil de l'imagerie en vue d'une étude Radiomics.



Le fonctionnement de la mémoire prospective dans le cancer du sein: étude de l'effet du sommeil à l'aide d'une épreuve de réalisme virtuelle (PROSOM-K).

Mylène DUIVON¹, Joy PERRIER¹, Florence JOLY^{2,3,4,5}, François GERNIER^{2,3,4}, Céline ORY^{2,3}, Marie FERNETTE^{2,3}, Idlir LICAJ^{2,3,5}, Julien GEFFRELOT^{2,3}, George EMILE^{2,3}, Djelila ALLOUACHE^{2,3}, Carine SEGURA-DJEZZAR^{2,3}, Christelle LEVY^{2,3}, Sébastien POLVENT¹, Lucie RAOUL¹, Fausto VIADER¹, Francis EUSTACHE¹, Géraldine RAUCHS¹, Béatrice DESGRANGES¹, Bénédicte GIFFARD^{1,5}

¹ Normandie Univ, UNICAEN, PSL Université, EPHE, INSERM, U1077, CHU de Caen, GIP Cyceron, Neuropsychologie et Imagerie de la Mémoire Humaine, 14000 Caen, France.

² Departments of Clinical Research Unit and Medical Oncology, Caen, France.

³ Institut Normand du Sein, Centre François Baclesse, Caen, France.

⁴ INSERM, Normandie Univ, UNICAEN, U1086 ANTICIPE, Caen, France.

⁵ Cancer and Cognition Platform, Ligue Nationale Contre le Cancer, 14076, Caen, France.

Contexte : De nombreuses patientes traitées pour un cancer du sein se plaignent de problèmes mnésiques, en particulier de difficultés à se souvenir d'actions à réaliser ultérieurement (mémoire prospective, MP)¹. Bien que cette mémoire soit essentielle à l'autonomie et à l'adhérence thérapeutique, elle reste peu étudiée dans le cancer^{1,2}. Par ailleurs, des troubles du sommeil sont fréquemment rapportés par les patientes^{3,4}. Du fait du rôle majeur du sommeil dans la consolidation mnésique, son influence sur la MP des patientes est importante à explorer. De plus, ces troubles de MP et de sommeil pourraient être majorés par l'hormonothérapie (HT)^{4,5}.

Objectifs : Évaluer les performances de MP et l'influence du sommeil chez des patientes traitées pour un cancer du sein en comparant les performances de rappel après une journée de veille et après une nuit de sommeil. Évaluer l'influence de l'HT sur la MP en comparant les performances de patientes traitées ou non traitées par HT.

Matériels et méthodes : Trente-sept patientes traitées pour un cancer du sein (sans chimiothérapie), dont 19 traitées par HT (H+) et 18 ne recevant pas d'HT (H-), et 21 sujets sains appariés en âge (<70 ans) et niveau d'étude (>fin d'études primaires) étaient évaluées. La tâche de MP consistait à mémoriser neuf intentions, puis à les rappeler au moment opportun dans un environnement virtuel. Les performances de rappel étaient distinguées en fonction du type de composante : prospective (rappel qu'une action doit être réalisée), rétrospective (rappel du contenu de l'action), et associative (rappel de l'action au moment approprié). L'étude se composait d'une session diurne (intentions apprises le matin et rappelées le soir) et d'une session nocturne (intentions apprises le soir et rappelées le lendemain matin après une nuit de sommeil). Le sommeil était évalué à l'aide de questionnaires (ISI et PSQI) et de la polysomnographie (enregistrement de l'activité cérébrale, cardiaque et musculaire). L'analyse de variance (ANOVA) et les post-hoc de Tukey étaient utilisés pour l'analyse statistique.

Résultats : Les intentions étaient significativement mieux rappelées après le délai nocturne comparé au délai diurne pour les trois groupes de sujets (score total $p < 0.01$). Un effet principal du groupe sur la MP était observé à la session nocturne (score total $p = 0.041$). Plus précisément, pour cette session nocturne, les patientes H+ avaient des scores de MP significativement inférieurs à ceux des patientes H- (score total $p = 0.040$) ; les performances de rappel des composantes prospective ($p = 0.052$) et associative ($p = 0.012$) des patientes H+ étaient inférieures à celles des patientes H-. Les patientes H+ avaient une plainte de sommeil plus importante que les sujets sains ($p = 0.046$) et un sommeil objectivement moins profond (voir poster de Joy Perrier, axe 4). Néanmoins, la plainte et les modifications objectives de sommeil observées chez les patientes H+ n'étaient pas significativement associées aux difficultés de rappel des composantes prospective et associative.

Conclusion : Les résultats de l'étude PROSOM-K suggèrent un impact négatif de l'HT sur le fonctionnement de la MP, et plus particulièrement sur la consolidation des intentions au cours du sommeil. Une plainte de sommeil et des modifications objectives étaient observées chez les patientes H+, mais nous n'avons pas mis en évidence d'association significative avec leurs difficultés de MP. Des études avec un plus grand nombre de sujets sont nécessaires pour confirmer l'impact de l'HT sur la MP et sur les processus de consolidation mnésique au cours du sommeil. Néanmoins notre étude suggère un effet délétère de l'HT à la fois sur le fonctionnement mnésique et sur le sommeil.

1. Duivon M, Perrier J, Desgranges B, Giffard B. Actualités sur la plainte cognitive associée au cancer du sein : la mémoire prospective, une mémoire oubliée. *Rev Neuropsychol* 2018 ; 10:222-31.

2. Duivon, M., et al. (2018). Impact of breast cancer on prospective memory functioning assessed by virtual reality and influence of sleep quality and hormonal therapy: PROSOM-K study. *BMC Cancer*, 18(1), 866.

3. Ancoli-Israel, S. (2015). Sleep Disturbances in Cancer: A Review. *Sleep Medicine Research*, 6(2), 45-49.

4. Perrier J, Duivon M, Rauchs G, Giffard B. Le sommeil dans les cancers non cérébraux : revue de la littérature, mécanismes potentiels et perspectives pour mieux comprendre les troubles cognitifs associés. *Médecine du Sommeil* 2021;18:90-103.

5. Desai, K., et al. (2013). Prevalence and risk factors for insomnia among breast cancer patients on aromatase inhibitors. *Supportive Care in Cancer*, 21(1), 43-51.

Mots clés : Cancer du sein, mémoire prospective, sommeil, hormonothérapie, réalité virtuelle.



Projet émergent 2019 Cancéropôle Nord-Ouest

Thomas VERMEULIN

Pertinence et faisabilité de la prise en compte des inégalités sociales et territoriales de santé dans le cadre du PMSI et de la Tarification à l'Activité en cancérologie. (Projet Caliss).

Thomas VERMEULIN ^{1,7}, Valérie JOSSET ^{2,7}, Mélodie LUCAS ^{3,7}, Andrea Fiordaliso ⁴, Véronique Merle ^{5,7,8}, Brigitte Dormont ⁶

¹ CLCC Henri Becquerel (Rouen),

² Centre Hospitalier de Dieppe,

³ Groupement Hospitalier du Havre,

⁴ Centre Hospitaliers d'Evreux-Vernon,

⁵ CHU de Rouen,

⁶ LEDA-LEGOS, Université Paris-Dauphine,

⁷ Groupe de recherche Dynamique et Evènements des Soins et des Parcours,

⁸ Inserm U1086 ANTICIPE

Introduction : En cancérologie, la littérature épidémiologique rapporte un impact de la défavorisation sociale sur l'incidence de certains cancers et la survie. La défavorisation ainsi que l'éloignement des patients, sont associés à un moindre accès au dépistage et à un stade au diagnostic plus avancé. Il est également suggéré un moindre accès aux traitements hospitaliers chez les patients les plus éloignés.

La littérature suggère que le statut socio-économique et l'éloignement géographique des patients sont également associés à un allongement des durées d'hospitalisations, entraînant une augmentation des coûts des traitements hospitaliers. Ces deux facteurs ne sont pas pris en compte dans la Tarification à l'Activité (T2A), système français de paiement prospectif au cas basé sur la nomenclature des Groupes Homogènes de Séjours (GHS) (Diagnosis-Related Groups (DRG) pour les anglo-saxons).

De nombreuses études ont mis en évidence les effets négatifs possibles de la mise en œuvre d'un paiement prospectif au cas qui ne tiendrait pas compte des sources dites d'hétérogénéité des coûts, à savoir la sélection des patients et une moindre qualité des soins.

Notre objectif est d'étudier l'effet sur les durées d'hospitalisation en cancérologie de la défavorisation sociale (définie selon la valeur de l'European Deprivation Index) et de l'éloignement des patients des centres de traitement.

Matériel & Méthode : Nous menons actuellement une étude rétrospective multicentrique réalisée à partir des systèmes d'information hospitaliers de plusieurs établissements de santé situés dans l'Eure et en Seine-Maritime : 1 établissement privé à but non-lucratif (CLCC Henri Becquerel, Rouen) ; 4 établissements publics (CHU de Rouen, CH de Dieppe, GHH et CH d'Evreux-Vernon) et 5 établissements privés lucratifs du groupe Vivalto Santé (2 cliniques à Evreux, 2 cliniques à Rouen et 1 clinique à Dieppe).

L'ensemble des séjours des patients pris en charge pour un cancer entre 2017 et 2019 ont été inclus. Dans chaque centre, la population d'étude a été sélectionnée à partir des bases PMSI-MCO par le médecin responsable de l'information médicale. La plateforme MapInMed calculera l'EDI et la distance entre le domicile des patients et le centre à partir de l'adresse des patients. Les autres variables collectées sont toutes issues du PMSI (durée de séjour, GHS, sévérité PMSI, âge, mode d'entrée, mode de sortie, nombre de journées passées dans une unité de réanimation, soins intensifs ou de surveillance continue...).

Pour répondre aux objectifs de l'étude, nous réaliserons un modèle de régression multivariée prenant en compte l'aspect hiérarchisé des données. La variable à expliquer sera la durée de séjour. Les premiers résultats seront disponibles en octobre 2021.

Perspectives : En cas de résultat positif, notre projet pourrait conduire à des propositions de financement des hôpitaux prenant en compte les inégalités sociales et territoriales de santé en cancérologie. Le système de financement de la santé en France étant à « enveloppe fermée », l'objectif sera d'optimiser la répartition des coûts du point de vue de l'Assurance Maladie sans augmenter leur montant total. Nous pourrions réaliser des simulations économiques afin de déterminer un modèle de financement adapté.

Mots clés : Cancer ; Paiement prospectif au cas ; Hétérogénéité des patients ; Défavorisation sociale ; Eloignement des patients

Présentation des travaux de recherche financés dans le cadre de l'Appel à Projets STRUCTURATION du Cancéropôle Nord-Ouest



STRUCTURATION

DÉVELOPPER LES ACTIONS STRUCTURANTES ET LES PROJETS COLLABORATIFS DANS L'INTER-RÉGION

- Favoriser l'innovation, la recherche translationnelle et l'émergence de projets inter-équipes et inter-sites,
- Dynamiser la communauté scientifique au sein de l'inter-région et fédérer de nouvelles disciplines et équipes en cancérologie,
- Aider au développement des projets et thématiques fortes pour une reconnaissance nationale.

12 projets financés (2016-2021) dont 7 encore en cours

50 à 100 K€ par projet

1,1 M€ investis

EFFET LEVIER

1,5 M€ obtenus par la suite, 10 financements dont 1 européen, 1 INCa, 1 ANR et 1 contrat industriel



Projet Structurant 2019 Cancéropôle Nord-Ouest

Anthony TREIZEBRE

Développement d'un micro-dispositif biomimétique pour l'étude du processus métastatique au foie – SYSMOL.

Antoine COUDERC ¹, Élise DELANNOY ^{2,3}, Géraldine TELLIER ³, Aude SIVERY ², Lilandra BOULAIS ¹, Solène ROUSSEAU ¹, Rachid JELLALI ¹, Anne LE GOFF ¹, Karim EL KIRAT ¹, Chann LAGADEC ⁴, Cécile LEGALLAIS ¹, Muriel VAYSSADE ¹, Fabrice SONCIN ³, Anthony TREIZEBRE ²

¹ BMBI - UMR CNRS 7338 / Université de technologie de Compiègne, France.

² Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Junia, Univ. Polytechnique Hauts-de-France, UMR 8520 - IEMN - Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie, F-59000 Lille, France

³ CNRS/IIS/Centre Oscar Lambret/Lille University SMMiL-E Project, CNRS Délégation Hauts-de-France, Lille, France. CNRS IRL 2820; Laboratory for Integrated Micro Mechatronic Systems, Institute of Industrial Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

⁴ UMR9020—U1277-CANTHER—Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, University of Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, F-59000 Lille, France

Au cours du processus métastatique, les cellules cancéreuses disséminent depuis la tumeur primaire vers des organes cibles distants. Elles subissent une intravasation dans le réseau capillaire sanguin en tant que cellules tumorales circulantes (CTC) et une extravasation pour devenir des cellules cancéreuses disséminées (DTC) et former une tumeur secondaire. Comprendre les étapes de la dissémination, de l'ensemencement et de la croissance métastatique constitue un véritable défi qui nécessite le déploiement de nouveaux modèles pour décrire ce processus actif et très sélectif. Ce projet SYSMOL nous a permis de poser les briques élémentaires dans le développement d'un « Organe sur Puce (OoC) » mimant l'architecture de sinusoides hépatiques afin d'identifier et caractériser l'interaction des CTC avec les cellules endothéliales sinusoidales (LSEC) et leur devenir en DTC au sein d'un compartiment 3D mimant cette niche hépatique.

Les LSEC qui tapissent les capillaires hépatiques présentent un grand nombre de molécules de surface pouvant favoriser la fixation des DTC ainsi que des fenestrations (pores) qui permettent de nombreux échanges (fluides, molécules) entre les cellules parenchymateuses et la lumière des sinusoides. Le cancer primitif du foie et l'invasion du foie par des cellules tumorales métastatiques affectent le schéma de fenestration normal et ce processus de perte de fenestrations est une réelle question. Pour établir un modèle pertinent, des cellules endothéliales de foie humain (LSEC), lignée SK-HEP1, ont été établies en culture *in vitro* et leur morphologie ainsi que l'état global de leur monocouche ont été optimisés en adaptant les conditions de culture. L'imagerie en microscopie électronique à balayage (MEB) nous a permis de montrer et de quantifier les fenestrations dans ces conditions. Les variations d'expression de gènes en fonction des conditions de culture ont été également étudiées par transcriptomique, afin d'établir la signature d'expression en comparaison avec HUVEC. Dans certaines pathologies (fibrose, cirrhose), qui précèdent le carcinome hépatocellulaire ce caractère fenêtré peut totalement disparaître, ce processus s'accompagne aussi de la formation d'une membrane basale entre les LSEC et les hépatocytes modifiant ainsi les caractéristiques mécaniques du support (ECM). Nous avons formulé des hydrogels de gélatine réticulée mimant les valeurs physiologiques saines et pathologiques en obtenant des supports très « mous » ($E = 1$ à 2 kPa, comme dans un foie sain) et des supports plus rigides ($E = 20$ à 30 kPa) et étudié l'effet de ces supports sur le phénotype des LSECs toujours en comparaison avec des HUVECs.

Nous avons évalué la faisabilité du suivi du comportement des DTCs dans un système de foie sur puce. Nous utilisons une lignée de cancer du sein (MDA MB-231 GFP) en co-culture avec des hépatocytes humains (HepG2/C3A) pour mimer le processus de dissémination. Un fois les paramètres expérimentaux mis au point (densité cellulaire, flux,...) nous avons maintenu cette co-culture pendant 4 jours. De manière très intéressante, et contrairement à la culture en 2D, les CTCs du sein restent dans la micropuce malgré la perfusion. Elles sont piégées dans les pores de l'ECM biomimétique. Dans le futur, cette expérience sera réalisée dans un environnement inflammatoire avec tous les facteurs nécessaires pour induire une cascade de métastases. Cependant, ces expériences préliminaires ont montré que les cellules MDA-MB-231 peuvent être injectées avec succès dans la micropuce intégrée au cryogel déjà occupée par les cellules hépatiques.

En conclusion, ce dispositif de « Métastase sur puce » est un outil 3D dynamique et biomimétique intéressant pour étudier les mécanismes d'extravasation des CTCs ainsi que les thérapies potentielles. Dans ces systèmes perfusés, l'effet des cytotoxiques sur la tumeur, mais aussi dans les tissus sains environnants, a pu être analysé. Ces premiers résultats prometteurs concernant la preuve de concept méritent d'être poursuivis dans des projets plus ambitieux au sein de ce consortium structuré grâce au soutien de la Cancéropôle Nord-Ouest.

Mots clés : Bio-microfluidique, bio-mimétisme, organes sur puce, foie sur puce, métastases, cellules endothéliales

SESSION
JEUNES CHERCHEURS



Concours des
3 meilleures
Communications orales



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Elise DELANNOY

Modèles de vaisseaux sanguins-sur-puce pour l'étude fonctionnelle des cellules endothéliales.



Elise DELANNOY^{1,2}, Géraldine TELLIER^{1,3}, Anthony TREIZEBRÉ², Fabrice SONCIN^{1,3}

¹ CNRS/IIS/Centre Oscar Lambret/Lille University SMMIL-E Project, CNRS Délégation Hauts-de-France, Lille, France

² Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Univ. Polytechnique Hauts-de-France, Junia, UMR 8520 - IEMN - Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie, F-59000 Lille, France

³ CNRS IRL 2820; Laboratory for Integrated Micro Mechatronics Systems, Institute of Industrial Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

Les vaisseaux sanguins sont des éléments centraux dans le traitement de nombreux cancers. D'une part, ils sont un obstacle au passage efficace des thérapies de la circulation sanguine vers les tumeurs solides. D'autre part, ils sont également capables de produire de nouveaux vaisseaux grâce à l'angiogenèse, un processus qui favorise le développement des tumeurs et qui est la cible de plusieurs thérapies anticancéreuses actuellement utilisées en clinique. Le microenvironnement tumoral joue un rôle essentiel dans la morphologie des vaisseaux. En particulier, la composition et les propriétés physiques de la matrice extracellulaire orientent fortement la physiologie des cellules endothéliales et influencent la perméabilité de la barrière qu'elles constituent. De plus, l'hyperperméabilité dans le cadre de l'inflammation est un problème de santé publique et constitue un effet secondaire bien connu de certains traitements anti-cancéreux.

Pour étudier ces phénomènes vasculaires, nous proposons un nouveau modèle de Biomedical MicroElectroMechanical System (Bio-MEMS) in vitro combinant l'ingénierie tissulaire et les technologies microfluidiques. Ces techniques allient les approches de culture cellulaires en 3D, de flux physiologiques et l'intégration de capteurs dans un microenvironnement contrôlé, permettant de construire des organes-sur-puce. Nous avons conçu des dispositifs de vaisseaux-sur-puce dans lesquels nous créons un vaisseau initial dans un hydrogel. Puis, nous évaluons l'intégrité et la perméabilité de l'endothélium, ainsi que sa capacité d'activation envers les cellules immunitaires et les cellules cancéreuses. Ces BioMEMS sont conçus dans un format standardisé de plaque multi-puits pour pouvoir être utilisés pour le criblage robotisé de médicaments à haut débit par les entreprises pharmaceutiques.

Un premier dispositif a été développé comme preuve de concept et le projet actuel consiste à le paralléliser, réduire ses dimensions, l'adapter à la perfusion et à intégrer des capteurs pour enrichir sa complexité. Actuellement, nous formons des lumens à l'intérieur d'un hydrogel en utilisant une approche microfluidique qui repose sur les propriétés de viscosité du collagène. Ceux-ci sont ensuiteensemencés avec des cellules endothéliales primaires humaines, qui forment une monocouche confluyente et cohésive, de manière à reproduire la face interne d'un vaisseau sanguin. Notre technique peut être réalisée une seule ou deux fois et permet de varier à façon le diamètre du vaisseau final, mais aussi de créer une double couche cellulaire.

Nous avons validé l'intégrité de la jonction endothéliale de ces vaisseaux-sur-puce en visualisant la distribution de VE-cadhérine et d'actine par immunomarquages et microscopie confocale, les réponses cellulaires ont été étudiées par RT-qPCR. Le vaisseau initial répond aux cytokines pro-inflammatoires et permet l'arrêt des cellules immunitaires circulant dans la puce microfluidique. Les gènes impliqués dans l'inflammation sont également surexprimés après stimulation au TNF-alpha. La perméabilité vasculaire de nos modèles est évaluée en mesurant quantitativement la diffusivité d'une solution de Dextran fluorescent, injectée à l'intérieur de la lumière des vaisseaux. Nous avons montré que nos dispositifs répondaient à un effet dose de vasoperméants, avec une augmentation de la perméabilité des vaisseaux pour une dose de plus en plus élevée de thrombine accompagnée d'une déstructuration progressive des jonctions interendothéliales. Nous avons ensuite enrichi l'approche biomimétique de notre modèle en y co-cultivant des cellules endothéliales et périvasculaires afin d'observer l'influence de leurs interactions sur la perméabilité des vaisseaux. Les résultats montrent que l'effet de la thrombine sur la perméabilité est drastiquement réduit en présence de fibroblastes.

Les prochaines étapes consistent à perfuser nos puces pour créer des conditions de flux et de pression contrôlées.

Les dispositifs microfluidiques sont un tournant pour répondre à des questions biologiques complexes. Ils visent à combler le fossé entre des tests 2D in vitro trop simples et des modèles animaux coûteux, chronophages et spécifiques aux espèces. Nous proposons ici un dispositif adapté au criblage de molécules, comme les inhibiteurs de tyrosine kinase ou les cytokines pro-inflammatoires, pour comprendre leur médiation sur l'activation et la perméabilité vasculaire dans le cadre des traitements anti-cancéreux.

Mots clés : Vaisseaux-sur-puce, modèle 3D, endothélium, perméabilité vasculaire, activation



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Nicolas STOUP



Les domaines EGF de l'oncomucine MUC4 interagissent avec ErbB2 pour activer la progression tumorale pancréatique et représentent de nouvelles cibles thérapeutiques.

Nicolas STOUP¹, Maxime LIBERELLE², Céline SCHULZ³, Sumeyye CAVDARLI³, Romain VASSEUR¹, Romain MAGNEZ¹, Xavier THURU¹, Patricia MELNYK², Nicolas RENAULT⁴, Nicolas JONCKHEERE¹, Nicolas LEBÈGUE², Isabelle VAN SEUNINGEN¹

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020 - UMR1277 - Canther - Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France.

² Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S 1172 - LiNC - Lille Neuroscience & Cognition, F-59000 Lille, France.

³ Univ. Lille, CNRS, UMR 8576 - UGSF - Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, F-59000 Lille, France

⁴ Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1286 - INFINITE - Institute for Translational Research in Inflammation, F-59000 Lille, France

Le cancer du pancréas représente la 4^{ème} cause de mortalité par cancer dans le monde. C'est une pathologie multifactorielle dont l'incidence (2.5% des cancers diagnostiqués en 2018), également répartie entre hommes et femmes, est en nette augmentation depuis 1980 (+247% entre 1980 et 2012). De plus, ce cancer ne dispose d'aucun diagnostic, ni d'aucun traitement efficaces à ce jour. En effet, les thérapies conventionnelles (FOLFIRINOX, gemcitabine) et/ou les thérapies ciblées restent des échecs. L'ensemble de ces facteurs alarmants élèvent donc ce cancer en problème de santé publique inquiétant, pour lequel il est urgent d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Dans ce sens, l'oncomucine MUC4, glycoprotéine membranaire, semble émerger comme une cible thérapeutique intéressante, puisqu'elle est néo-exprimée dès les stades précoces de la maladie. Elle constitue également l'un des seuls partenaires membranaires connus d'ErbB2, en participant à l'activation de sa signalisation oncogénique, et à la progression tumorale. Aussi, nous avons identifié dans le domaine extracellulaire de MUC4, une région comprenant 3 domaines de type EGF, potentiellement impliqués dans l'interaction avec ErbB2. Néanmoins, les modalités précises de cette interaction sont encore inconnues, et on ne sait pas si les domaines EGF de MUC4 possèdent une activité biologique intrinsèque de *growth factor-like*.

Dans ce travail, nous avons ainsi montré par des approches d'interactions protéine-protéine (GST pull-down, Thermophorèse à micro-échelle, Co-Immuno-précipitation, PLA) que MUC4 et son partenaire ErbB2 interagissent directement et physiquement à la membrane, via la région de MUC4 impliquant les domaines EGF. Par des approches de dynamique moléculaire, nous avons pu identifier et valider les hotspots précis d'interaction entre ces domaines EGF et ErbB2. Ensuite, par des études *in vitro* et *in vivo*, nous avons mis en lumière l'activité oncogénique intrinsèque des domaines EGF de MUC4, en soulignant le rôle central du domaine EGF1 dans l'interaction et la promotion de la prolifération / migration / progression tumorale. Nous avons également montré l'impact du domaine EGF1+2 dans l'activation des voies de signalisation oncogéniques mTOR / Akt / β -caténine et la régulation d'un protéome pro-oncogénique. Enfin, nous avons designé et testé un premier peptide inhibiteur de l'interaction MUC4-ErbB2 ciblant les domaines EGF de MUC4. Ces résultats ouvrent la voie au design de nouvelles molécules inhibitrices ciblant les domaines EGF de MUC4, qui pourraient représenter une stratégie alternative intéressante aux échecs thérapeutiques ciblant ErbB2 dans le cancer du pancréas.

Mots clés : MUC4, ErbB2, cancer du pancréas, domaines EGF, interactions protéine-protéine, peptide inhibiteur

NOTES



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Cécilia THOMINE



Efficacité de l'inhibiteur d'HDAC belinostat, en monothérapie ou associé à des inhibiteurs de Bcl-x_L ou de Mcl-1, dans un modèle ex vivo d'organoïdes tumoraux ovariens.

Cécilia THOMINE^{1,2}, Louis-Bastien WEISWALD^{1,2,3}, Romane FLORENT^{1,2,3}, Pierre-Marie MORICE^{1,2}, Hippolyte PAYSANT^{1,2}, Florence GIFFARD^{1,2}, Mélanie BRIAND^{1,2,4}, Jean-François LEBRUN^{1,5}, Sandrine MARTIN^{1,5}, Laurent POULAIN^{1,2,3,4}, Marie VILLEDIEU^{1,2}

¹ UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris, 14076 Caen, France

² Université de Caen Normandie, UNICAEN, Inserm U1086 ANTICIPE, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris, 14076 Caen, France

³ Université de Caen Normandie, UNICAEN, Inserm U1086 ANTICIPE, Plateforme ORGAPRED, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris, 14076 Caen, France

⁴ Centre de Ressources Biologiques « OvaRessources », Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris, 14076 Caen, France

⁵ Département de Chirurgie, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris, 14076 Caen, France

L'identification de stratégies thérapeutiques innovantes représente un enjeu majeur pour améliorer la prise en charge des cancers de l'ovaire, première cause de décès par cancer gynécologique. Notre Unité a montré que l'apoptose des cellules cancéreuses ovariennes pouvait être induite en inhibant les protéines anti-apoptotiques Bcl-x_L et Mcl-1 et/ou en favorisant l'expression de leurs partenaires pro-apoptotiques Bim et Puma. Dans le cadre du développement de stratégies visant à moduler l'équilibre entre ces protéines, nous avons mis en évidence *in vitro* l'intérêt du belinostat, un inhibiteur d'HDAC actuellement en clinique. Ce dernier augmente ainsi fortement l'expression protéique de Bim et de Puma et inhibe partiellement celle de Bcl-x_L dans deux lignées cancéreuses ovariennes. Il induit efficacement la mort de ces cellules à forte concentration et, utilisé à concentration sub-toxique, il les sensibilise aux molécules BH3-mimétiques inhibant Bcl-x_L (ABT-737) ou Mcl-1 (AMG 176). Notre objectif était de valider l'efficacité de ces stratégies thérapeutiques dans un modèle *ex vivo* d'organoïdes tumoraux, modèle plus représentatif des tumeurs de patientes. En effet, les organoïdes tumoraux sont établis à partir de ces tumeurs au laboratoire et présentent l'avantage de conserver les caractéristiques histologiques, biologiques et moléculaires des tumeurs d'origine. L'analyse menée dans cinq lignées d'organoïdes tumoraux montre que le belinostat en monothérapie réduit leur viabilité et provoque leur déstructuration, à des concentrations variables selon les lignées. L'étude plus approfondie de l'effet du belinostat dans une de ces lignées montre qu'il est associé à une activation de la caspase-3, à une induction de l'expression de Bim et à une diminution de celle de Bcl-x_L, comme observé *in vitro*. Enfin, la combinaison du belinostat à concentration sub-toxique avec l'ABT-737 ou l'AMG 176 se révèle très efficace pour réduire la viabilité de toutes les lignées d'organoïdes, y compris les moins sensibles au belinostat en agent seul. Cette étude confirme donc l'efficacité du belinostat, en monothérapie ou associé à l'ABT 737 ou à l'AMG 176, dans un modèle *ex vivo* représentatif des tumeurs de patientes. Elle suggère ainsi l'intérêt de stratégies incluant le belinostat dans les cancers de l'ovaire.

Mots clés : Cancer de l'ovaire, belinostat, organoïdes, apoptose, protéines de la famille Bcl-2

NOTES



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Mélody CAILLOT



Cyclin D1 cible hexokinase 2 et contrôle la glycolyse oxydative dans le myélome multiple.

MélodyCAILLOT¹, JérômeBOURGEAIS², HassanDAKIK³, ElodieCOSTÉ^{1,3}, NathalieMAZURE⁴, NicolasHAMADOUCHE¹, Eric LELIÈVRE⁵, Olivier COQUERET⁵, Olivier HÉRAULT^{2,3}, Frédéric MAZURIER³, Brigitte SOLA¹

¹ Normandie Univ, INSERM, Unicaen, Caen, France

² Service d'Hématologie Biologique, CHRU de Tours, Tours, France

³ Université de Tours, GICC EA7501, CNRS, ERL7001, Tours, France

⁴ Université Côte d'Azur, INSERM, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire, Nice, France

⁵ CRCNA, ICO Paul Papin, INSERM, Université d'Angers, Angers, France

Le myélome multiple (MM) est une hémopathie maligne caractérisée par la prolifération et l'accumulation de plasmocytes clonaux dans la moelle osseuse. Malgré de nouveaux traitements, la maladie reste incurable. Cycline D1 est exprimée dans environ la moitié des MM suite à la translocation t(11;14)(q13;q32) ou à d'autres mécanismes non caractérisés. En raison de son rôle dans la régulation du cycle cellulaire, les cellules présentant un taux élevé de cycline D1 ont une prolifération anormale. Mais les formes nucléaires et cytoplasmiques de cycline D1 possèdent d'autres fonctions oncogéniques, non canoniques et notamment, la régulation de la transcription, le contrôle de la stabilité des chromosomes, le pouvoir métastatique. Enfin, cycline D1 pourrait intervenir dans le métabolisme du glucose. Partant de l'observation, dans les cellules de MM, d'un effet Warburg c'est-à-dire d'un shift de la respiration mitochondriale au profit de la glycolyse, nous avons exploré le rôle de cycline D1 dans ce mécanisme.

Des clones stables dérivés de la lignée de MM, LP1 exprimant la GFP (green fluorescent protein) seule et d'autres, exprimant des protéines de fusion : soit GFP-cycline D1a (forme cytoplasmique) ou GFP-cycline D1b (forme nucléaire) ont été établis.

L'étude du métabolisme oxydatif et de la glycolyse dans les clones des cellules LP1 par le Seahorse Analyzer a montré une diminution de la respiration mitochondriale au profit de la glycolyse en présence de cycline D1a ou D1b. Comme nous l'avons décrit précédemment dans des cellules B matures (1), la forme cytoplasmique de cycline D1 se lie à HK2 (hexokinase 2) au niveau de la membrane externe de la mitochondrie et entre en compétition avec la protéine canal VDAC (voltage-dependent anion channel). L'étude de l'expression des ARN messagers et des protéines associés à la glycolyse dans les différents clones LP1 exprimant la forme nucléaire de cycline D1 a montré une augmentation spécifique de l'expression d'ARNm et de la protéine hexokinase 2 (HK2) ainsi que la phosphorylation constitutive de STAT3. STAT3 est un régulateur positif du facteur inductible par l'hypoxie 1 (HIF1 α). HIF1 α étant un régulateur transcriptionnel de l'hypoxie, de la prolifération cellulaire ou encore de la glycolyse, la localisation et l'activation de la protéine ont été analysées. En condition normoxique, HIF1 α est cytoplasmique dans les cellules de MM mais nucléaire dans les cellules synthétisant la forme nucléaire de cycline D1. L'activation de HIF1 α et l'induction de BNIP3, une de ses cibles, nécessitent des conditions de culture en hypoxie. La colocalisation de HIF1 α et cycline D1 nucléaire et la liaison entre les deux protéines ont été confirmées par immunofluorescence confocale et PLA (proximity-ligation assay). Enfin, nous avons confirmé le rôle de cycline D1 comme cofacteur de HIF1 α dans le contrôle la transcription du gène HK2 par des expériences de gène rapporteur. L'analyse des banques de données de transcriptomique nous a permis de voir que la surexpression de HK2 est corrélée chez les patients avec un MM à un mauvais pronostic.

Nous avons décrit que l'oncoprotéine cycline D1 entretient un effet Warburg grâce à deux mécanismes complémentaires concomitants : (a) la forme associée à la mitochondrie de la cycline D1 diminue la respiration mitochondriale et (b) la forme nucléaire de cycline D1 régule le métabolisme oxydatif dans les cellules de MM au travers d'un axe STAT3/HIF1 α /HK2. HK2 pourrait être considérée comme une cible potentielle pour un traitement contre le myélome multiple (2).

Références :

1. Tchakarska et al. Cyclin D1 inhibits mitochondrial activity in B cells. *Cancer Res.* 2011, 71: 1690-1699.

2. Caillot et al. Cyclin D1 targets hexokinase 2 to control aerobic glycolysis in myeloma cells. *Oncogenesis.* 2020, 9: 68.

Mots clés : cyclin D1, hexokinase 2 (HK2), glycolyse oxydative, myélome multiple



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Clara LEWILLON



Rôle des canaux calciques (Store Operated channels) et de la signalisation Calcium-dépendante associée dans la régulation des propriétés des cellules souches leucémiques.

Clara LEWILLON¹, Aurélie GUILLETTE¹, Maroe-Océane LAGUILLAUMIE¹, Ossama LABIAD¹, Pascaline SE-GARD¹, Audrey VINCENT¹, Nathalie JOUY², Thierry IDZIOREK¹, Loïc LEMONNIER³, Bruno QUESNEL¹, Yasmine TOUIL¹

¹ CANTHER UMR-S 1277 INSERM - UMR 9020 CNRS

² UMS 2014/US41

³ Inserm U1003, Laboratoire de Physiologie Cellulaire

Introduction : La leucémie aiguë myéloïde est une hémopathie maligne caractérisée par un arrêt de la différenciation et une prolifération clonale des précurseurs hématopoïétiques de la lignée myéloïde menant à une accumulation de cellules immatures appelées blastes.

Les thérapies conventionnelles ne permettent pas l'éradication de la totalité des cellules leucémiques et la persistance de ces dernières peut être due à la présence de cellules souches leucémiques à un état quiescent. Cet état leur permet ainsi d'échapper à la lyse cytotoxique du système immunitaire et aux chimiothérapies.

De nombreux canaux calciques participent à la régulation de l'homéostasie calcique intracellulaire et la concentration calcique intracellulaire peut déterminer le destin cellulaire, notamment la quiescence, la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules. Il est très largement documenté qu'un dérèglement de cette homéostasie calcique est l'une des caractéristiques de la biologie tumorale.

Les objectifs de notre étude sont d'évaluer la signature calcique des cellules souches et non souches, quiescentes ou prolifératives leucémiques via l'expression de canaux et de leur flux calcique. Il est ensuite question d'évaluer l'impact de la modulation du calcium dans la régulation des cellules souches et non souches leucémiques et d'observer son effet sur la quiescence, la prolifération et l'immuno-échappement via l'expression de PD-L1. Enfin, il faut évaluer l'impact de facteurs environnementaux (cytarabine, IFN γ ...) sur ces cellules.

Matériels et méthodes : Pour réaliser ces objectifs, deux lignées cellulaires leucémiques à des stades différents de différenciation de la lignée myéloïde sont étudiées (U937 et KG1). Ces lignées ont subi différents traitements (IFN γ , agents anticancéreux, inhibiteurs de la voie de la signalisation calcique) et marquages dans le but d'identifier l'expression de PD-L1 et Ki67, d'évaluer l'entrée capacitive de calcium et l'activité des canaux calciques (sonde ratiométrique calcique INDO1-AM) en cytométrie. Un immuno-phénotypage et un test fonctionnel (Rhodamine 123) discriminant des sous-populations cellulaires ont été réalisés en parallèle. Toutes ces observations ont été obtenues par la technique de cytométrie en flux.

L'expression des gènes d'intérêt (PD-L1 et les canaux calciques et senseurs ORA1, ORA2, ORA3, STIM1 et STIM2) a été étudiée par l'intermédiaire de qPCR.

Résultats : Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence une signature calcique spécifique des cellules souches et non souches leucémiques. Les résultats préliminaires montrent qu'il semble exister au sein des lignées leucémiques KG1 et U937 une hétérogénéité du profil de l'homéostasie calcique caractérisée par un stock réticulaire calcique et par une entrée capacitive de Ca²⁺ ainsi que par l'expression des canaux ORA1 et des senseurs STIM. Selon le phénotype « cellules souches » et cellules non souches leucémiques ou le statut quiescent ou prolifératif, se dessine une « signature calcique » spécifique. Ces profils « calciques » semblent être modulés par des facteurs du microenvironnement tumoral qui semblent réguler les propriétés des cellules souches et non souches (quiescence et immuno-échappement par l'expression de PD-L1).

Conclusions : Il est question d'approfondir les investigations afin de mieux décortiquer une éventuelle signature calcique définie par une signalisation calcique et les canaux associés. D'autres lignées leucémiques présentant des profils divers concernant notamment la taille du compartiment de cellules souches leucémiques, la capacité d'entrée en quiescence ou encore le stade de blocage de différenciation seront analysées. Il faudrait également élargir les investigations sur des échantillons de cellules leucémiques de patients atteints de LAM afin de vérifier une potentielle signature calcique des sous-populations cellulaires. L'étude de la signalisation calcique dans les cellules souches leucémiques ainsi que l'identification des canaux calciques qui régulent cette voie pourrait permettre de mieux comprendre la biologie tumorale et pourrait également permettre, à terme, de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur de nouvelles cibles et marqueurs de diagnostic.

Mots clés : Leucémie aiguë myéloïde, calcium, cellules souches

13^{èmes} Journées Scientifiques du Cancéropôle Nord-Ouest - 13 au 15 octobre 2021 - Deauville



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Ilyass MOUMMAD

Impact d'un algorithme de machine learning de resampling sur les radiomiques en IRM.



Ilyass MOUMMAD¹, Cyril JAUDET¹, Alexis LECHERVY², Samuel VALABLE³, Charlotte RABOUTET⁴, Joëlle LACROIX⁴, Alain BATALLA¹, Aurélien CORROYER-DULMONT^{1,3}

¹ Service de physique médicale, CLCC François Baclesse, 14000 Caen, France

² UMR GREYC, Normandie Univ, UNICAEN, ENSICAEN, CNRS, 14000 Caen, France

³ Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/Equipe CERVOxy, GIP CYCERON, 14000 Caen, France

⁴ Service de radiologie, CLCC François Baclesse, 14000 Caen, France

Introduction : L'IRM est prépondérante dans la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cancer. Elle joue un rôle au niveau de la détection de la pathologie jusqu'au suivi thérapeutique. Malheureusement, la conséquence de ce succès est un temps d'attente beaucoup trop long (~2mois) pour les patients pour avoir un examen. Des solutions ont donc été proposées notamment grâce à l'intelligence artificielle (machine learning). L'idée est d'effectuer des acquisitions plus rapides en diminuant la taille de matrice d'acquisition et de reconstruire ensuite les images en haute résolution par machine learning (ML). Cependant, l'effet de l'application de ces algorithmes sur les paramètres d'intensité et de texture est peu étudié. L'objectif de cette étude a été (1) de développer un modèle de ML permettant une reconstruction d'images basses résolutions acquises rapidement en images hautes résolutions de qualité diagnostique conventionnelle et a(2) d'étudier l'impact de cet algorithme sur les paramètres de radiomiques.

Méthodes : L'IRM utilisée est une IRM SIEMENS AREA 1.5T. Le modèle de ML a été développé sur des images T1 crâne avec un set de 9756; 2438 et 3718 images pour l'entraînement, la validation et le test issues de 85 acquisitions. Le modèle est un réseau de neurones de type auto-encodeur d'architecture U-Net, avec des liens entre les blocs de l'encodeur et ceux du décodeur à travers des concaténations pour recouvrir les informations spatiales perdues lors des couches de pooling. Ce modèle, utilisant la librairie python Keras, a été entraîné avec une fonction de coût combinant l'erreur quadratique moyenne, l'erreur de gradient moyenne et l'indice de similarité structurelle entre la sortie du réseau et l'image de référence, cette fonction de coût personnalisée permet de reconstruire des images de haute résolution tout en ayant des structures et des détails de contours bien définis. La qualité du modèle a ensuite été évaluée par analyse du Peak Signal to Noise Ratio (PSNR) et du Structural Similarity Method (SSIM) des images en entrée et en sortie du modèle. L'extraction des données de radiomiques au niveau de métastases cérébrales a été effectuée sur 40 lésions issues de 11 patients (2049 images) en utilisant la librairie python pyradiomics et le logiciel 3dSlicer. L'ensemble des statistiques a été effectué avec la librairie python scipy. Un test t apparié a été utilisé pour comparer les valeurs moyennes entre les images ML et les images originales. Les caractéristiques de texture des images ML par rapport aux images IRM originales ont été comparées avec une corrélation de Pearson et un coefficient de corrélation de concordance (CCC).

Résultats : Le modèle permet, à partir d'image 128*128 pixels, de reconstruire des images T1 en 256*256 de bonne qualité, similaires à l'image de référence acquise en routine clinique avec un temps d'acquisition deux fois plus long. Le PSNR est amélioré de 31.44±2.89 à 34.24±2.80 (p<0.001) entre l'image basse résolution et l'image en sortie du modèle vs image de référence. De la même manière, le SSIM est amélioré de 0.93±0.02 à 0.96±0.03 (p<0.001). Concernant les paramètres de textures, les images reconstruites en deux fois moins de temps présentent de fortes disparités avec les images originales avec une différence significative pour 83 des 104 paramètres de textures (79.81%) notamment en ce qui concerne les valeurs d'intensité de premier ordre comme la valeur minimale, maximale, moyenne, médiane et le coefficient de variation (p<0.05). Ces différences se traduisent par une perte de corrélation (CCC<0.85, Lambin, 2017) pour 50/104 (48.08%) des paramètres de texture. De façon intéressante, l'algorithme permet une restauration de ces paramètres avec 48/104 (46.15%) des paramètres non stables et avec une absence de différence significative pour les paramètres d'intensité de premier ordre précédemment mentionnés excepté le coefficient de variation. Enfin, seuls 27/104 (25.96%) paramètres présentent un CCC en dessous de 0.85.

Conclusions : Cette étude préliminaire a permis de développer un modèle de ML permettant une reconstruction d'images IRM de basse résolution acquises rapidement en images de haute résolution. L'analyse des radiomiques montre une conservation pour la majorité des paramètres de textures après application de l'algorithme alors qu'une perte notable est observée sur les images de basse résolution acquises rapidement.

Mots clés : Radiomiques, IRM, Machine Learning



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Julie BÉCAM



L'activité physique réduit la cachexie observée après irradiation cérébrale chez le rat.

Julie BÉCAM¹, Gwenn ROPARS¹, Fatima-Azzahra DWIRI¹, Jérôme TOUTAIN¹, Laurent CHAZALVIEL¹, Mikael NAVEAU², Samuel VALABLE¹, Myriam BERNAUDIN¹, Omar TOUZANI¹, Elodie A. PÉRÈS¹

¹ Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/CERVOxy, GIP Cyceron

² Normandie Univ, UNICAEN, CNRS, UMS 3408, GIP CYCERON

Introduction : Avec les avancées majeures dans la prise en charge des cancers, les patients survivent plus longtemps. De ce fait, les effets indésirables des traitements anticancéreux sont de plus en plus décrits. Fréquemment utilisée pour le traitement des tumeurs cérébrales, la radiothérapie (RT), certes efficace pour tuer les cellules tumorales, présente une neurotoxicité pour le tissu sain qui aboutit à des répercussions non-négligeables sur la récupération post-traitement des patients et également sur leur qualité de vie. En effet, en plus des déficits cognitifs, les patients traités par RT se plaignent constamment d'une fatigue qui invalide fortement leur vie quotidienne mais dont l'origine n'est pas encore connue à ce jour. Récemment, des études cliniques ont évoqué que les cancers et les traitements anti-cancers conduisent à une cachexie, définie comme une diminution de la masse musculaire et une augmentation de la fatigue, qui est de plus en plus décrite comme un facteur de mauvais pronostic. Toutefois, cette problématique n'a pas encore été prise en considération dans le contexte de la RT des tumeurs cérébrales, qu'elles soient primitives ou secondaires. Il est donc nécessaire de comprendre l'origine de la fatigue radio-induite pouvant être associée à des effets à distance non-ciblés de la RT et d'apporter des stratégies thérapeutiques afin de prévenir et/ou atténuer ces effets secondaires.

Objectifs : Cette étude préclinique menée dans un modèle de rat adulte vise à : 1/ étudier et caractériser les effets de l'irradiation cérébrale sur le muscle squelettique et son lien avec la fatigue radio-induite et 2/ évaluer l'intérêt de l'activité physique sur les atteintes musculaires radio-induites.

Matériels et méthodes : Des rats Wistar mâles adultes âgés de 6 mois ont été aléatoirement répartis en 4 groupes: des rats contrôles (CTL), des rats irradiés (IR), des rats soumis à une activité physique (AP) et des rats irradiés soumis à une activité physique (IR+AP). Une irradiation de l'ensemble du cerveau a été réalisée à une dose de 30 Gy (3x10 Gy sur 3 jours consécutifs, irradiateur X-RAD 225Cx, CYCERON). De 3 jours à 6 mois après irradiation, les rats ont été soumis à de l'activité physique forcée à l'aide d'un tapis de course 3 fois par semaine (30 minutes/séance). Les effets de l'irradiation cérébrale, associée ou non à l'activité physique, sur le gastrocnémus (GNM, muscle de la patte postérieure) ont été évalués par des approches complémentaires: des tests comportementaux (fatigue et activité locomotrice), la masse musculaire, l'IRM du muscle et des analyses histologiques.

Résultats : Les rats IR présentent une fatigue et une réduction de l'activité locomotrice qui sont atténuées par l'AP à long-terme. A 6 mois post-irradiation, le poids du GNM des rats IR a diminué par rapport aux animaux CTL et cet effet s'atténue chez les rats IR+AP. L'IRM multiparamétrique du muscle a mis en évidence une diminution de la diffusivité moyenne et de la diffusivité axiale dans le GNM chez les rats IR par rapport aux rats CTL dès 14 jours post-irradiation. De façon intéressante, la masse du GNM, la fatigue et l'activité locomotrice sont significativement corrélées à la diffusivité moyenne. Ces résultats suggèrent alors une modification de l'organisation des fibres musculaires induite par l'irradiation cérébrale, qui est atténuée par l'activité physique. Les analyses histologiques ont montré que l'irradiation cérébrale modifie la typologie des fibres du GNM, effet qui est amoindri par l'activité physique.

Conclusions : Cette étude menée chez le rat a permis de mettre en évidence pour la première fois que l'irradiation cérébrale induit des dommages musculaires pouvant expliquer en partie la fatigue observée après RT. De plus, ces altérations musculaires radio-induites pourraient être atténuées par la pratique d'une activité physique.

Remerciements: CNRS, UNICAEN, Archade, Cancéropôle Nord-Ouest, ANR-10-EQPX1401, Région Normandie et Etat dans le cadre du CPIER « Vallée de la Seine » 2015-2020 (projet HABIONOR) et CPER 2015-2020 (projet Cancer-COG) plateau technique BRP (behavioral research platform, Unicaen).

Mots clés : Radiothérapie, muscle squelettique, cerveau, fatigue, activité Physique



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Mélanie DOS SANTOS

Programme de stimulation cognitive informatisé pour améliorer les troubles cognitifs chimio-induits des patients atteints de cancer : un essai contrôlé randomisé.

Mélanie DOS SANTOS ^{1,2,3}, Isabelle LÉGER ⁴, Olivier RIGAL ⁵, Ildir LICAJ ^{1,2}, Sarah DAUCHY ⁴, Christelle LEVY ³, Sabine NOAL ³, Carine SEGURA ³, Corinne DELCAMBRE ³, Djellila ALLOUACHE ³, Aurélie PARZY ³, Jérôme BARRIERE ⁶, Thierry PETIT ⁷, Marie LANGE ^{1,2}, Aurélie CAPEL ², Bénédicte CLARISSE ², Jean Michel GRELLARD ², Johan LEFEL ⁵, Florence JOLY ^{1,2,3,8}

¹ INSERM, U1086, ANTICIPE, 14000 Caen, France

² Unité de Recherche Clinique, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France

³ Département d'Oncologie Médicale, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France

⁴ Département de Psycho Oncologie, Institut Gustave Roussy, 94805 Villejuif, France

⁵ Département d'Oncologie Médicale, Centre Henri-Becquerel, 76000 Rouen, France

⁶ Département d'Oncologie Médicale, Centre Antoine Lacassagne, 06189 Nice, France

⁷ Département d'Oncologie Médicale, Centre Paul Strauss, 67000 Strasbourg, France

⁸ Université de Caen Basse-Normandie, 14000 Caen, France

Introduction :

Il n'existe actuellement aucune prise en charge spécifique pour les troubles cognitifs chimio-induits. Hors, il s'agit d'un effet secondaire fréquent avec un impact négatif sur la qualité de vie. Nous avons mené un essai contrôlé randomisé à trois bras pour évaluer l'impact d'une stimulation cognitive informatisée sur la plainte cognitive, la cognition objective, la qualité de vie et les symptômes anxio-dépressifs chez des patients atteints de cancer traités par chimiothérapie.

Matériel/Méthodes :

Les patients présentant des troubles cognitifs pendant ou dans les 5 ans suivant la fin de la chimiothérapie ont été randomisés dans l'un des trois groupes: stimulation cognitive informatisée avec un neuropsychologue (groupe expérimental A), cahiers d'exercices cognitifs à domicile (groupe contrôle actif B) ou suivi téléphonique (groupe contrôle actif C), avec pour chaque groupe 9 séances sur 3 mois. La plainte cognitive a été évaluée par l'auto-questionnaire FACT-Cog, la cognition objective par des tests neuropsychologiques; la qualité de vie par le FACT-General et la dépression et l'anxiété par des tests psychologiques. Le critère d'évaluation principal était la proportion de patients présentant une amélioration d'au moins 7 points du score de déficience cognitive perçue (PCI) du FACT-Cog.

Résultats :

Parmi les 167 patients inclus (âge médian de 51 ans, 96% de femmes), le groupe A avait la plus forte proportion de patients avec une amélioration d'au moins 7 points du PCI (75%), suivi des groupes B (59%) et C (57%), mais la différence n'était pas statistiquement significative ($p = 0,13$). La différence moyenne du score PCI était significativement plus élevée dans le groupe A ($p = 0,02$), qui a également montré une amélioration significative des capacités cognitives perçues ($p < 0,01$) et une amélioration significative de la mémoire de travail ($p = 0,03$). Il a été mis en évidence une amélioration significative de la sous-échelle de qualité de vie du FACT-Cog ($p = 0,01$), mais pas du FACT-General. Le groupe A a également montré une amélioration significative des symptômes de dépression ($p = 0,03$).

Conclusions :

Notre programme de stimulation cognitive informatisé a permis d'améliorer la plainte cognitive et la mémoire de travail. Il était également associé à une meilleure qualité de vie en lien avec les troubles cognitifs et à des niveaux de dépression plus faibles.

Mots clés : Cancer, Chimiothérapie, Troubles cognitifs, Stimulation cognitive, Soins de support



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Renaud PARMENT



Le 5-Fluorouracil impacte le microbiote et l'inflammation intestinales, génère un statut inflammatoire systémique et entraîne des troubles cognitifs et comportementaux : prévention de baisse d'activité ou « neurofatigue » par le Qiseng.

Renaud PARMENT^{1,2,3}, Martine DUBOIS^{1,2,3}, Laurence DESRUES^{1,2,3}, Alexandre MUTEL^{1,2,3}, Nicolas BELIN⁴, Laure TRON^{3,5,6}, Moïse COËFFIER^{2,7}, Vincent COMPÈRE^{1,2,3,8}, Florence JOLY^{3,5,6,9}, David RIBET^{2,7}, Hélène CASTEL^{1,2,3}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM U1239, DC2N, 76000 Rouen, France

² Institute for Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), 76000 Rouen, France

³ Cancer and cognition Platform, Ligue Nationale contre le Cancer, 14000 Caen, France

⁴ Les Laboratoires Phytodia, Illkirch, France

⁵ Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France

⁶ Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

⁷ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM U1073, DC2N, 76000 Rouen, France

⁸ University Hospital of Rouen, 76000 Rouen, France

⁹ University Hospital of Caen, 14000 Caen, France

Contexte : La survenue de troubles cognitifs a récemment été décrite chez les patients atteints d'un cancer et traités par chimiothérapie. Ces troubles, potentiellement associés à une accélération du vieillissement cérébral, ont un impact négatif sur la qualité de vie des patients, et sur l'observance du traitement. La recherche préclinique est essentielle pour comprendre, tester des stratégies de prévention et traiter les troubles cognitifs et/ou la « neurofatigue » associée au cancer et aux traitements. Il a été démontré que le *Panax quinquefolius* (PQ) s'est révélé efficace pour compenser la fatigue chez les patients traités pour un cancer (Barton et al., 2013). Nous avons développé un modèle animal comportemental pour étudier l'impact d'une solution à base de *Panax Quinquefolius*, Qiseng® (Natsuca) contenant de la vitamine C (VC), ou d'une solution de VC seule, sur les déficits cognitifs et sur la réactivité émotionnelle et l'activité/exploration (neurofatigue) induits par la chimiothérapie 5-Fluorouracil (5-FU) chez la souris.

Méthodes : Des souris C57Bl/6j âgées de 12 semaines ont reçu 3 injections intrapéritonéales de 5-FU (60 mg/kg/semaine) ou de NaCl (0,9%) co-administrées avec des gavages quotidiens pendant 3 semaines de placebo, VC (19 mg/kg) ou Qiseng (140 mg/kg PQ+19 mg/kg VC) à partir de la 2^{ème} semaine de traitement au 5-FU. À la fin de la période de traitements, des tests comportementaux évaluant i) l'activité/fatigue (open field, actimétrie), ii) l'état émotionnel de type anxiété (labyrinthe en croix surélevée, émergence) ou dépression (anhédonie par préférence au sucrose, suspension par la queue et nage forcée) et iii) les fonctions cognitives (piscine de Morris) ont été entrepris. Une quantification des ginsénosides et des cytokines pro-inflammatoires dans le sang, et une évaluation de l'altération du microbiote intestinal ainsi que de l'inflammation des tissus intestinales et cérébraux ont été réalisées.

Résultats : Le 5-FU provoque une mortalité chez 15% des animaux traités, réduit de manière significative les activités locomotrice ($P < 0,001$) et exploratoire ($P < 0,01$), potentiellement associées à la neurofatigue, et provoque des troubles de l'apprentissage spatiale ($P < 0,001$). Ces effets sont associés à une réduction de la neurogenèse (cellules NeuN+/BrdU+) dans l'hippocampe (Hp) ($P < 0,05$). La VC ne compense pas les effets du 5-FU sur la mortalité, l'activité/fatigue, l'exploration et les fonctions cognitives. En revanche, le Qiseng inhibe totalement l'impact de la chimiothérapie sur l'activité/fatigue et sur la neurogenèse uniquement dans l'Hp ventral. A la suite de l'administration de Qiseng, des ginsénosides Rb1, Rc et Rd, ainsi que le métabolite protopanaxadiol peuvent être détectés dans le sérum des animaux traités, et dans le caecum, une augmentation des niveaux de *Lactobacillus* ($P < 0,01$) [amplification de *L. reuteri* ($P = 0,04$), *L. acidophilus* ($P < 0,01$), *L. murinus/animal* ($P = 0,02$) et *L. johnsonii/gasserii* ($P = 0,01$)]. Le Qiseng prévient ces modifications du microbiote et entraîne une diminution des bêta-, gamma- et delta-protéobactéries ($P < 0,001$). Les dommages tissulaires et l'inflammation intestinale (macrophages MOMA+) chez les souris 5-FU sont partiellement compensés en présence de Qiseng. Au niveau plasmatique, l'effet stimulateur du 5-FU sur les cytokines pro-inflammatoires TNF- α , IL-2, IL-12p70, IL-17 ($P < 0,01$) est bloqué par la VC et le Qiseng, et sur IL-6 et MCP-1 ($P < 0,001$), uniquement par le Qiseng. Au niveau cérébral, une élévation de l'expression du récepteur gp130 de l'IL-6 ($P < 0,05$) a été observée chez les souris 5-FU dans les cellules neuronales (NeuN+) et astrocytaires (GFAP+), accompagnée d'une diminution significative de la prolifération des précurseurs neuronaux dans le Hp ventral et dorsal ($P < 0,05$). Le Qiseng permet de prévenir les effets du 5-FU sur l'induction de gp130 et sur la prolifération des précurseurs neuronaux dans l'Hp dorsal et ventral.

Conclusion : Ces résultats indiquent que le Qiseng, par l'action des ginsénosides, a prévenu les symptômes de la fatigue chez les souris et pourrait prévenir les effets secondaires des chimiothérapies en contrôlant le microbiote intestinal, en bloquant l'augmentation plasmatique d'IL-6 et MCP-1 et en réduisant l'expression la neuroinflammation cérébrale, protégeant ainsi certaines fonctions cérébrales associées à la neurofatigue.

Mots clés : *Panax quinquefolius*, Vitamine C, Chimiothérapie, Fatigue, Fonction cognitive, IL-6, MCP-1



Session Jeunes chercheurs Communications orales

Etienne BASTIEN

COVIPACT : Evaluation longitudinale des symptômes de stress post-traumatique pendant la pandémie de COVID-19 en population oncologique.



E. Bastien¹, S. Lefèvre-Arbogast^{2,3}, G. Binarelli^{2,3}, O. Rigal^{5,6}, L. Guittet^{3,4}, J.-M. Grellard², M. Lange^{2,3}, A. Leconte², F. Quilan¹, R. Travers⁷, A. Morel¹, L.-F. Pépin⁶, F. Jardin^{6,8}, M. Leheurteur⁵, J. Lequesne², B. Clarisse², A. Faveyrial¹, F. Joly^{1,2,3,4}

¹ Département d'oncologie Médicale, Centre François Baclesse, Caen, France

² Recherche clinique, Centre François Baclesse, Caen, France

³ Anticipo, Inserm U1086 Anticipo, Caen, France

⁴ Centre Hospitalo-Universitaire, Caen, France

⁵ Oncologie médicale, Centre Henri Becquerel, Rouen, France

⁶ Recherche clinique, Centre Henri Becquerel, Rouen, France

⁷ Centre de données Nord-Ouest (CTD-CNO), Caen, France

⁸ Hématologie, Centre Henri Becquerel, Rouen, France

Introduction : La pandémie de COVID-19 a entraîné des bouleversements sanitaires, sociaux et économiques touchant l'ensemble de la population. En plus de leur maladie, les personnes atteintes d'un cancer ont dû faire face aux mesures d'isolement et de distanciation sociale, la peur de développer une forme sévère de COVID-19 ou la peur de perte de chance en cas de modification ou de suspension de leur traitement oncologique. L'ensemble de ces facteurs a pu constituer un événement traumatique majeur, pouvant aboutir à un syndrome de stress post traumatique (SSPT). Depuis le premier confinement, nous avons donc étudié l'évolution des symptômes du SSPT et des troubles qui y sont associés (insomnie, cognition, qualité de vie) de manière longitudinale et prospective au cours de la pandémie de COVID-19 et de ses différentes périodes de confinement.

Méthode : COVIPACT est une étude bi-centrique ayant inclus des patients traités pour des cancer solides ou hématologiques en hôpital de jour oncologique du Centre François Baclesse (Caen) ou du centre Henri

Becquerel (Rouen). Ces traitements devaient avoir débutés avant ou pendant le premier confinement. Les patients ont rempli des questionnaires validés pour la mesure des symptômes de SSPT (IES-R ≥ 33), de l'insomnie (ISI ≥ 15), de la qualité de vie (FACT-G) et de la plainte cognitive (FACT-Cog). Les symptômes de SSPT étaient considérés comme avérés en cas d'IES-R ≥ 33 . L'insomnie était modérée à sévère en cas de score ISI ≥ 15 . Les évaluations ont été faites lors de la première phase de confinement (avril/mai 2020 ; M0), puis à 3 mois en période de déconfinement (juillet/ août 2020 ; M3) et enfin à 6 mois lors du deuxième confinement (octobre/novembre 2020 ; M6). L'évolution des symptômes de SSPT et des autres mesures de qualité de vie a été modélisée par des modèles de régression à effet mixtes.

Résultats : Parmi les 734 patients inclus dans COVIPACT, 579, 347 et 328 ont respectivement complétés les questionnaires à M0, M3 et M6. La médiane d'âge était de 64 ans avec 72% de femmes, 59% de cancers métastatiques. La majorité des patients étaient traités pour un cancer du sein (44%), un cancer pulmonaire ou ORL (20%), digestif (16%) ou gynécologique (11%). Des symptômes de SSPT ont été observés chez 21,2% des patients lors du premier confinement, 13,6% des patients lors du déconfinement et 23,6% lors du 2ème confinement ($p < 0.001$). De plus, les patients rapportaient une dégradation de leur cognition au cours de l'étude, avec une plainte cognitive observée chez 13,3%, 19,5% et 22,3% des patients à M0, M3 et M6 respectivement ($p < 0.001$). A l'inverse, la proportion d'insomnie était stable au cours du temps : 24,3% à M0, 27,1% à M3 et 28,1% à M6 ($p = 0.28$), de même que le score de qualité de vie.

A tous les temps de l'étude, les symptômes de SSPT étaient associés à plus d'insomnie, plus de plainte cognitive et une moins bonne qualité de vie.

Conclusion : Plus de 20% des patients de la cohorte oncologique COVIPACT ont développé des symptômes de SSPT durant les périodes de confinement liés au COVID-19. Ce taux était moins important en période de déconfinement. Les symptômes SSPT étaient associés à une dégradation du sommeil, de la qualité de vie et des fonctions cognitives.

Mots clés : COVID-19, Syndrome de Stress Post Traumatique

SESSION

JEUNES CHERCHEURS

Concours des 3 meilleurs Posters

2 étapes

Mi septembre 2021 :

Sélection des 10 meilleurs posters parmi l'ensemble des posters reçus au format pdf.

Seuls les auteurs des 10 meilleurs posters sont éligibles au concours.

Lors des journées scientifiques :

- Communications orales flash de 3 minutes par les auteurs des 10 posters sélectionnés.
- Présentation des posters sélectionnés aux membres du jury pendant les 2 sessions posters jeunes chercheurs de mercredi et jeudi.



Poster

1) Development of high throughput approaches to identify cancer associated long non-coding RNAs.

Mohammad AHMAD ^{1,2}, Bernard LAMBERT ^{1,2,3}, Nicolas VIGNERON ^{1,2}, Emilie BROTON ^{1,2,4}, Edwige ABELIARD ^{1,2}, Martin FIGEAC ⁵, Cecile BLANC-FOURNIER ^{2,6}, Laurent POULAIN ^{1,2,4}, Christophe DENOYELLE ^{1,2}, Matthieu MERYET-FIGUIERE ^{1,2}

¹ Normandie Univ, UNICAEN, Inserm U1086 ANTICIPE (Interdisciplinary Research Unit for Cancer Prevention and Treatment), Caen, France

² Cancer Centre François Baclesse, UNICANCER, Caen, France

³ CNRS, Normandy Regional Delegation, Caen, France

⁴ Plateforme ImpedancCELL (SF4206 ICORE)

⁵ Functional and structural genomics platform, Institute for Cancer Research, Lille Univ, Lille, France

⁶ CRB Ovaressources, Cancer Centre François Baclesse, Biopathology Department

Ovarian cancer (OC) is the main cause of death from gynecological malignancies with emergence of 240,000 new cases and 130,000 deaths annually along with poor 5-year survival. OC is characterized by diagnosis at late stages (III/IV FIGO), and recurrence associated resistance to platinum-based chemotherapy. It is important to identify the molecular mechanisms involved in chemoresistance of this disease. Long non-coding RNAs (LncRNAs) have been identified in regulation of many biological processes and their perturbed expression is associated with progression of many diseases including cancer. In OC, despite a limited number of studies implicating LncRNAs, it appears clearly that they play important roles in many aspects of this disease, including response to treatment. Therefore, identification of new biomarkers predictive in the response to treatment and new therapeutic targets are considered as priority to improve patient's care. We studied the transcriptomic profiles of 50 tumor samples of patients who bear a homogenous disease of high grade and late stage serous OC by next generation sequencing (NGS), 30 showing complete response (RC) after 1st line chemotherapy and 20 partial response or stable disease (RI). We identified 250 differentially expressed genes (DEGs) between RC and RI, among which 97 lncRNAs. We selected 7 lncRNAs as candidates to explore the consequences of their inhibition in OC cell lines. Out of them, the downregulation of MYO16-AS1 by specific siRNAs appears to reduce the wound healing capacity of SKOV3 cells. We will further characterize the functions of MYO16-AS1 and the determinants of its action. Moreover, we will explore the possible role in the response to treatment of all the 97 differentially expressed lncRNAs, by using a CRISPR/Cas9-based functional screening, in order to get a comprehensive overview of all potentially involved lncRNAs in the response to treatment of OC cells. To that end we already established a SKOV3-derived cell line expressing CRISPR/Cas9 in an inducible way.

Mots clés : *Ovarian Cancer, Chemoresistance, LncRNAs, Next Generation Sequencing, CRISPR/Cas9*

NOTES



2) Expression des transporteurs au magnésium et impact pronostic dans les cancers digestifs.

Julie AUWERCX¹, Pierre RYBARCZYK^{1,2}, Philippe KISCHEL¹, Isabelle DHENNIN-DUTHILLE¹, Denis CHATELAIN², Henri SEVESTRE^{1,2}, Isabelle VAN SEUNINGEN³, Halima OUADID-AHIDOUCH¹, Nicolas JONCKHEERE³, Mathieu GAUTIER¹

¹ Université de Picardie Jules Verne, UFR des Sciences, UR-UPJV 4667, F-80000 Amiens, France

² Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU Amiens-Picardie, F-80000 Amiens, France

³ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277-CANTHER-Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

Introduction : Les cancers digestifs sont les cancers les plus fréquents et les plus meurtriers au niveau mondial [1]. De nombreuses études épidémiologiques suggèrent qu'une mauvaise alimentation et une mauvaise hygiène de vie pourrait augmenter le risque de développer un cancer digestif [2-4]. Il a été montré notamment que la quantité de magnésium (Mg^{2+}) dans l'alimentation est en baisse constante depuis plusieurs années et pourrait être en lien avec l'incidence de certains cancers digestifs tels que le cancer du pancréas [5]. Le magnésium est un cation essentiel à la physiologie en régulant de nombreux processus cellulaires. L'homéostasie cellulaire du Mg^{2+} est régulée par la présence de transporteurs membranaires dont les principaux sont TRPM6, TRPM7, MAGT1, CNNM4, SLC41A1, et MRS2. Toutefois, leur distribution dans les tissus cancéreux digestifs n'a pas été entièrement étudiée.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'expression des transporteurs au Mg^{2+} dans les cancers digestifs en lien avec des paramètres cliniques tels que la survie globale.

Matériel et méthodes : Nous avons analysé l'expression de l'ARNm des transporteurs au Mg^{2+} TRPM6, TRPM7, MAGT1, CNNM4, SLC41A1 et MRS2 dans les bases de données transcriptomiques pour étudier leur profil d'expression et leur impact sur la survie des patients. Les cancers étudiés étaient les cancers de l'œsophage (ESCA ; $n = 180$), de l'estomac (STAD ; $n = 406$), du pancréas (PAAD ; $n = 168$) et du cancer colorectal (COADREAD ; $n = 524$). Les bases de données du Genotype Tissue Expression (GTEx) et du Cancer Genome Atlas (TCGA) ont été utilisées pour comparer respectivement les taux d'ARNm dans les tissus normaux et tumoraux, en utilisant les outils GEPIA2 et RStudio.

Résultats : En comparant les tissus non-tumoraux et tumoraux, nous avons observé une altération de l'expression des transporteurs au Mg^{2+} dans la plupart des cancers digestifs. MAGT1 et CNNM4 sont surexprimés dans l'ensemble des cancers digestifs ($p < 0,01$) et sont négativement corrélés avec la survie globale et la survie sans récurrence chez les patients atteints de PAAD ($p < 0,05$). Une forte expression de TRPM6 est toutefois corrélée avec une meilleure survie chez ces patients ($p < 0,01$). De façon intéressante, nous avons identifié une signature de gènes impliquant TRPM7, MAGT1 et CNNM4 ($0,19 < R < 0,16$ pour ESCA ; $0,2 < R < 0,27$ pour PAAD - $p < 0,01$). Cette signature est associée avec un pronostic défavorable dans certains cancers digestifs, comme le PAAD ($p < 0,001$), ESCA ($p < 0,001$) et COADREAD ($p < 0,001$).

Conclusion : Nos travaux suggèrent donc l'importance des transporteurs au magnésium comme MAGT1, TRPM7 et CNNM4 en tant que potentiels nouveaux biomarqueurs dans les cancers digestifs. Il serait intéressant d'étudier de façon plus approfondie l'interaction potentielle entre ces protéines et leur impact sur les processus cancéreux comme la prolifération, la migration ou l'invasion cellulaire.

1. Arnold, M., et al., Global Burden of 5 Major Types of Gastrointestinal Cancer. *Gastroenterology*, 2020. 159(1): p. 335-349 e15.

2. Song, M. and E. Giovannucci, Preventable Incidence and Mortality of Carcinoma Associated With Lifestyle Factors Among White Adults in the United States. *JAMA Oncol*, 2016. 2(9): p. 1154-61.

3. Song, M., W.S. Garrett, and A.T. Chan, Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology*, 2015. 148(6): p. 1244-60 e16.

4. Baudry, J., et al., Association of Frequency of Organic Food Consumption With Cancer Risk: Findings From the NutriNet-Santé Prospective Cohort Study. *JAMA Intern Med*, 2018. 178(12): p. 1597-1606.

5. Dibaba, D., et al., Magnesium intake and incidence of pancreatic cancer: the VITamins and Lifestyle study. *Br J Cancer*, 2015. 113(11): p. 1615-21.

Mots clés : Magnésium, cancers digestifs, transporteurs au magnésium, TCGA



4) O-GlcNAc Transférase et LAMP2 dans les cellules coliques humaines : une connexion inattendue.

Awatef BEN AHMED, Marlène MORTUAIRE, Stéphan HARDIVILLÉ, Céline SCHULZ, Tony LEFEBVRE, Anne-Sophie VERCOUTTER-EDOUART

UGSF - UMR 8576 CNRS

La O-GlcNAcylation est une modification post-traductionnelle réversible des protéines cytoplasmiques, nucléaires et mitochondriales. Elle se fait sous le contrôle d'un unique couple d'enzymes : la O-GlcNAc transférase (OGT) qui transfère un seul résidu de GlcNAc sur les Ser/Thr des protéines à partir de l'UDP-GlcNAc, et la O-GlcNAcase (OGA) qui hydrolyse la liaison O-glycosidique. L'UDP-GlcNAc est le produit final de la voie de biosynthèse des hexosamines (HBP) qui est au carrefour de plusieurs voies métaboliques dont le métabolisme du glucose, des acides aminés et des acides gras. L'OGT est considérée comme un senseur nutritionnel car son activité et la spécificité envers ses substrats sont dépendants du niveau d'UDP-GlcNAc produit dans le cytosol. Une hyper-O-GlcNAcylation et une surexpression de l'OGT sont observées dans différents cancers dont le cancer colorectal, participant à la reprogrammation métabolique et à la croissance tumorale.

Afin de comprendre comment un déséquilibre de la O-GlcNAcylation peut favoriser le comportement cancérigène des cellules coliques, nous avons étudié *in vitro* l'effet de l'extinction de l'OGT par RNAi sur des lignées coliques cancéreuses ou non, et avons montré que leur potentiel de migration et d'adhésion est affecté [Steenackers et al, 2016], une des explications possibles étant des changements de leur glycosylation de surface [Bivi et al, 2019], les glycanes jouant un rôle fondamental dans les interactions cellulaires. Nous avons également mis en évidence que l'inhibition de l'OGT altère la glycosylation de LAMP2. LAMP2 est une glycoprotéine de la membrane lysosomale, impliquée dans la macroautophagie (autophagie) en participant à l'étape de fusion des autophagosomes avec les lysosomes. Dans ce contexte, l'objectif de ma thèse est de comprendre comment l'activité de l'OGT peut interférer avec la glycosylation de LAMP2 et si cela dépend des apports nutritionnels. Nos premiers résultats montrent que l'inhibition de l'OGT avec l'acétyl-5S-GlcNAc ou OSMI-4, altère de manière glucose dépendante la glycosylation de LAMP2 et d'une autre glycoprotéine golgienne dans les lignées coliques cancéreuses ou non, et dans des organoïdes issus d'une tumeur colorectale humaine. Nous observons également par immunofluorescence une relocalisation périnucléaire de LAMP2 lorsque l'OGT est inhibée. Cette relocalisation qui est reportée lors du processus autophagique, suggère que l'OGT et la O-GlcNAcylation pourraient participer ainsi à ce processus catabolique dans les cellules coliques, sous certaines conditions nutritionnelles. La suite de notre étude nous permettra de déterminer comment l'activité de l'OGT peut-elle réguler le positionnement des lysosomes au sein de la cellule, et si le défaut de glycosylation de LAMP2 affecte ou non son rôle dans l'autophagie.

Steenackers A, et al. Silencing the Nucleocytoplasmic O-GlcNAc Transferase Reduces Proliferation, Adhesion, and Migration of Cancer and Fetal Human Colon Cell Lines. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016, 7:46.

Bivi J et al. OGT Controls the Expression and the Glycosylation of E-cadherin, and Affects Glycosphingolipid Structures in Human Colon Cell Lines. *Proteomics*. 2019 Nov;19(21-22):e1800452. doi: 10.1002/pmic.201800452. Epub 2019 Aug 20. PMID: 31373757.

Mots clés : LAMP2, O-GlcNAcylation, cancer colorectal, N-glycosylation, autophagie



10) Rôle de l'équilibre redox lors de la reprogrammation de cellules cancéreuses non-souches en cellules souches cancéreuses mammaires.

Mathilde BRULÉ¹, Marie DENOULET¹, Nadège BIDAN¹, François ANQUEZ², Chann LAGADEC¹

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Univ. Lille, CNRS, UMR 8523 - PhLAM - Physique des Lasers Atomes et Molécules, F-59000 Lille, France

Les cellules souches cancéreuses (CSC) sont particulièrement résistantes à la chimiothérapie et à la radiothérapie. Une plasticité phénotypique relative a été observée dans certaines cellules cancéreuses non-souches (non-CSC) capables de réacquérir un phénotype CSC sous l'effet de ces traitements. Le laboratoire a récemment découvert que cette reprogrammation de non-CSC en CSC impliquait des cytokines inflammatoires. De plus, les cytokines et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) conduisent à une boucle d'autorégulation entre elles. De manière intéressante, alors que les CSC ont une expression plus élevée des systèmes anti-oxydants qui les rendent résistantes aux ROS produites par les traitements anticancéreux, leur métabolisme mitochondrial entraîne un niveau plus élevé de fuite de protons mitochondriaux que les non-CSC et génère des ROS. Compte tenu des relations étroites entre les cytokines, les ROS et la reprogrammation, ce travail vise à identifier les mécanismes moléculaires qui déterminent l'équilibre redox dans les CSC pour empêcher la reprogrammation et ainsi améliorer l'efficacité des traitements contre le cancer. Les méthodes classiques pour étudier les CSC sont souvent destructives et permettent l'analyse de la population cellulaire à des moments précis. Or, la reprogrammation se produit seulement chez 2% de la population cellulaire et, de plus, elle est un processus dynamique non synchronisé. Cela signifie qu'après traitement, elle ne se produit pas au même moment dans chaque cellule.

Pour mieux comprendre cette reprogrammation et dans le but de la prévenir, nous avons développé un protocole comprenant un système de microscopie et des algorithmes d'analyses d'images pour permettre le suivi dynamique de la reprogrammation de chaque non-CSC en CSC. Ainsi, une cellule individuelle peut être suivie pendant cinq jours dans plusieurs canaux de fluorescence en parallèle. Ces outils nous permettent d'évaluer, avec des systèmes rapporteurs fluorescents, l'état souche, l'état redox et le métabolisme énergétique au niveau d'une seule cellule.

Nous avons généré trois lignées cellulaires de cancer du sein triple-négatif exprimant de manière stable un rapporteur de l'état souche. Ce rapporteur est composé du promoteur de l'ALDH1a1 dont l'expression est 70 fois plus importante dans les CSC mammaires, suivi du fluorophore mNeptune. Ce rapporteur permet d'isoler les CSC et de suivre les reprogrammations de non-CSC en CSC. En combinant ce rapporteur avec un autre spécifique de l'oxydation du glutathion, Grx1roGFP2, il nous est possible de suivre les niveaux de ROS intracellulaires au cours de la reprogrammation d'une non-CSC en CSC. Le protocole expérimental que nous développons permet de suivre plusieurs dizaines de milliers de cellules pendant cinq jours après irradiation. Dans un premier temps, l'ensemble de la population cellulaire hétérogène est imagée. Puis, dans un second temps, pour analyser les événements de reprogrammations non synchrones induits par les traitements, une synchronisation *in silico* à l'échelle de la cellule unique est réalisée lors de l'analyse des images. Nos premiers résultats semblent indiquer que le moment de la reprogrammation de non-CSC en CSC serait précédé d'une chute brutale du niveau d'oxydation, dix heures avant cette reprogrammation. Ces résultats doivent être confirmés à l'aide d'inhibiteurs pharmaceutiques, afin d'inhiber le processus de reprogrammation et d'augmenter l'efficacité des thérapies anticancéreuses.

Mots clés : Reprogrammation, Cellule Souche Cancéreuse, Radiothérapie, ROS, Métabolisme, Cellule Unique



13) Récepteur MET et fusions ETS : co-acteurs de la progression métastatique du cancer de la prostate.

Elisa CAROUGE, Isabelle DAMOUR, David TULASNE, Anne CHOTTEAU-LELIEVRE

Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR 9020-U1277-CANTHER- Heterogeneity plasticity and resistance to thérapies, F-59000, Lille, France

Le cancer de la prostate (CaP) a la plus forte incidence parmi les cancers masculins dans les pays européens et américains. Au diagnostic de la maladie, les premiers traitements utilisés sont les hormonothérapies anti-androgène. Cependant, la quasi-totalité de ces cancers développent des résistances menant à des cancers dits **résistants à la castration** (CPRC). Aux stades avancés, qui peuvent être métastatiques, le taux de mortalité est élevé en dépit des progrès thérapeutiques apportés par de nouvelles chimiothérapies. Les fusions ETS et le récepteur MET sont des acteurs importants dans la progression du CaP. MET est surexprimé dans les tumeurs *hormono-résistantes* et dans les **métastases osseuses**. Les fusions ETS impliquent des promoteurs hormono-dépendants et la partie codante des gènes de la famille ETS, ERG et ETV1, dans respectivement dans 50% et 10% des cas. Ces fusions induisent une surexpression anormale de ces facteurs de transcription perturbant ainsi l'expression de nombreux gènes cibles. De façon intéressante, il existe des liens fonctionnels entre le récepteur MET et les facteurs de transcription de la famille ETS, suggérant qu'ils appartiennent à la même voie de régulation. Ainsi, il a déjà été montré, dans différents cancers, que des amplifications géniques de MET, conduisant à son activation constitutive, induisent l'expression de plusieurs facteurs de transcription ETS dont ETV1. Inversement, les facteurs ETS sont capables de réguler l'expression de MET, favorisant son activation par l'HGF. Par ailleurs, le récepteur MET et les facteurs de transcription ETS sont impliqués dans la régulation de réponses biologiques communes incluant la morphogénèse de branchement, la migration et l'invasion. Ainsi, le but de notre étude est de comprendre le *lien fonctionnel* entre ces deux acteurs dans la progression métastatique du CaP.

A partir de différents **modèles cellulaires** de CaP exprimant les fusions ERG ou ETV1 et MET, nous réalisons des tests phénotypiques in vitro tels que des tests de prolifération, de migration, d'invasion ou encore de croissance cellulaire sans ancrage. Ces modèles seront ensuite utilisés pour une analyse transcriptomique comparative à haut-débit afin de relever une **signature moléculaire associée** à la collaboration des fusions ETS et du récepteur MET. Enfin, nous évaluerons la collaboration de ces acteurs chez des souris exprimant l'HGF humain, notamment par l'utilisation d'**inhibiteurs du récepteur MET** (ITK) ainsi que chez les patients sur des coupes de CaP et de métastases osseuses.

Les premiers résultats montrent que, ensemble, le récepteur MET et les fusions ETS peuvent conduire à un **phénotype plus agressif** tel que la migration ou encore l'invasion cellulaire. Différents tests en cours, tels que la croissance cellulaire sans ancrage ou encore la formation de sphéroïdes, nous révéleront si d'autres effets phénotypiques sont modifiés par ces acteurs.

Malgré des progrès dans le diagnostic et la thérapie des tumeurs primitives, l'évolution des cancers de la prostate en **métastases osseuses** reste la **cause principale de mortalité**. En effet, les outils moléculaires de détection des métastases, de suivi et de thérapie manquent cruellement. La découverte récente des réarrangements chromosomiques impliqués dans le cancer de la prostate, et notamment dans la formation des métastases osseuses, de même que l'implication du récepteur MET dans les cancers hormono-résistants, offre une avancée certaine dans la compréhension et le diagnostic de cette pathologie, mais leur niveau d'implication reste à préciser. Nos travaux, pris dans leur globalité permettront de savoir si le récepteur MET utilise comme **relais** les facteurs de transcription ERG et ETV1 pour induire des changements phénotypiques dans des modèles in vitro et la progression tumorale et métastatique in vivo. Si c'est le cas, les patients présentant une expression à la fois de MET et des fusions pourraient tirer un bénéfice plus important d'un **traitement par les ITK**. Ces données sont importantes car l'enjeu actuel n'est plus le développement d'inhibiteurs efficaces, mais la **stratification précise** des patients permettant la prescription des **thérapies ciblées**. De plus, notre projet permettra d'établir une signature moléculaire de la coopération entre MET et ERG/ETV1. Certains de ces gènes cibles pourraient, soit représenter des marqueurs diagnostics associés notamment à la progression métastatique, soit représenter de **futurs cibles thérapeutiques**.

Mots clés : Cancer de la prostate ; fusion ETS ; Récepteur MET ; métastases osseuses ; analyses transcriptomiques ; signature moléculaire ; thérapie ciblée



14) Le canal calcique Orai3 régule la migration et l'adhésion des cellules cancéreuses mammaires humaines.

Mohamed CHAMLALI¹, Lise RODAT-DESPOIX¹, Albrecht SCHWAB², Halima OUADID-AHIDOUCH¹

¹ Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Moléculaire - UR4667, UPJV

² Institute für Physiologie, Münster, Allemagne

Le cancer du sein est le cancer le plus répandu chez les femmes dans le monde. Malgré l'amélioration du dépistage et du traitement aux premiers stades du développement de la tumeur, il reste difficile de traiter les stades du cancer lorsque les processus métastatiques s'installent. Le développement métastatique repose notamment sur l'acquisition par les cellules cancéreuses de capacités de migration cellulaire, impliquant un remodelage du cytosquelette, qui est fortement dépendant de la concentration intracellulaire en calcium. Alors que la recherche s'est concentrée sur l'implication des canaux ioniques membranaires dans les processus de migration cellulaire, le rôle du canal calcique Orai3 dans les processus de migration demeure inconnu.

Par imagerie cationique et imagerie cellulaire en temps réel, nous avons montré que le canal Orai3 permet l'entrée basale de calcium essentielle à la migration de deux lignées de cancer du sein: MDA-MB-231 et MDA-MB-231 BrM2 (n = 3; Student t-test et test ANOVA; p < 0,001). Nous avons constaté que l'extinction moléculaire d'Orai3 diminuait la migration cellulaire ainsi que l'entrée basale de calcium dans ces lignées. De plus, l'activation pharmacologique d'Orai3 grâce 2-amino-éthyl borate (2-APB) conduit à une augmentation de la migration cellulaire.

En outre, nous avons démontré l'impact de l'expression d'Orai3 dans la morphologie des lignées cellulaires du cancer du sein grâce à la modulation du cytosquelette. En effet, les cellules n'exprimant plus Orai3 présente une diminution considérable de la polymérisation des filaments d'actine F ainsi qu'une morphologie cellulaire arrondie par rapport aux cellules exprimant Orai3 (n = 3; test ANOVA; p < 0,001).

Enfin, nous avons étudié les mécanismes d'adhésion cellulaire à travers l'étude de l'activité de la calpaïne. Nos résultats ont montré qu'Orai3, grâce à sa capacité à moduler l'entrée basale de calcium, permet l'activation de la calpaïne, qui est nécessaire à la modulation des processus d'adhésion et de migration cellulaire. Ce résultat indique qu'Orai3 module la dynamique du calcium intracellulaire nécessaire aux processus d'adhésion et de migration et au remodelage du cytosquelette des cellules cancéreuses du sein (n = 3; test ANOVA; p < 0,001). Fait intéressant, nous avons également remarqué que les forces d'adhésion à la matrice extracellulaire, qui ont été déterminées par spectroscopie de force couplée à la microscopie à force atomique, n'ont été modifiées d'aucune façon (N = 3; Student t-test), suggérant une régulation des processus d'adhésion et de migration par une voie de signalisation sous-jacente à Orai3.

En conclusion, nos résultats révèlent un rôle clé d'Orai3 dans la migration des cellules cancéreuses du sein en régulant le remodelage du cytosquelette d'actine et l'adhésion cellulaire en corrélation avec la modulation de l'entrée du calcium basal.

Mots clés : Orai3, Calcium, Migration cellulaire, Adhésion cellulaire, Cancer du sein

NOTES



Poster

16) Mécanismes Épigénétiques Impliqués dans la Reprogrammation Radio-Induite de Cellules non-Souche Cancéreuses (non-CSC) en Cellules Souches Cancéreuses (CSC) dans le Cancer du Sein.

Marie DENOULET¹, Ihsan EL SAYED¹, Mathilde BRULÉ¹, Karine HANNEBICQUE², Nadège BIDAN¹, Justine BAILLEUL¹, Xuefen LE BOURHIS¹, Chann LAGADEC¹

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Unité tumorigenèse et résistance aux traitements, Centre Oscar Lambret, F-59000 Lille, France

Introduction : Les cellules souches cancéreuses (CSC) constituent une sous-population tumorale caractérisée par leur pluripotence, leur capacité à s'autorenouveler et à régénérer une nouvelle tumeur, ce qui en fait donc une cause majeure des rechutes de cancers. De plus, il a été montré que des traitements anti-cancéreux comme la radiothérapie, induisait la reprogrammation de cellules non-CSC en CSC dans le cancer du sein, ce qui conduit à un enrichissement en cellules résistantes au sein de la tumeur. Les facteurs de pluripotence, comme KLF4, NANOG, OCT4 et SOX2 sont réexprimés pendant ce processus, possiblement à la suite de l'activation de différentes voies de signalisations connues pour être impliquées dans l'état souche, telles que les voies Notch ou Wnt/ β -caténine. Cependant, les thérapies ciblant ces voies de signalisation ne peuvent être envisagées car trop de voies sont impliquées et l'effet de ces thérapies est souvent trop délétère chez le patient. Ainsi, la réacquisition d'un phénotype souche étant un processus dynamique de plasticité cellulaire, nous avons émis l'hypothèse que des modifications épigénétiques réguleraient tout un ensemble de gènes spécifiques, responsables du changement d'état vers un état souche. Nous avons donc pour objectif l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques parmi les gènes nécessaires à la reprogrammation et régulés par des changements épigénétiques au cours de celle-ci, car l'inhibition spécifique de ce processus permettrait de sensibiliser les tumeurs à la radiothérapie.

Méthode : Les populations CSC et non-CSC sont triées, avant et après irradiation. Puis, les différences de méthylation de l'ADN sont évaluées par *reduced representation bisulfite sequencing* (RRBS). Des régions différentiellement méthylées (DMR) sont alors identifiées par analyse bioinformatique des résultats. Les DMR les plus pertinentes pour notre étude sont sélectionnées sur certains critères tels que : un différentiel de méthylation important et statistiquement relevant, un nombre suffisant de CpG, la pertinence du contexte génomique (îlots CpG, gènes, éléments régulateurs...) etc. Les différences de méthylation observées à ces régions sont alors validées de manière région-spécifique par *bisulfite sequencing PCR* (BSP). En parallèle, un outil permettant l'analyse automatisée des résultats de BSP est développé. Cet outil offre une méthode rapide, efficace et flexible pour l'analyse, la visualisation et la comparaison statistique des données de BSP, en particulier dans le cas de séquençage direct des produits de PCR ou du séquençage des clones en lots.

Résultats, résultats attendus : L'analyse globale de la méthylation de l'ADN entre les populations CSC et non-CSC, avant et après irradiation, révèle de nombreuses régions DMR. L'analyse bioinformatique de ces données ainsi que l'étude des gènes à proximité de ces régions sont encore en phase finale de réalisation. Ces résultats nous permettront de sélectionner les régions les plus pertinentes pour validation par BSP dans un premier temps, puis seront validées fonctionnellement dans notre modèle d'étude. Nous nous attendons donc à pouvoir identifier des régions spécifiques différentiellement régulées par la méthylation de l'ADN en fonction de l'état différencié ou souche des cellules, qui auraient un rôle dans l'induction de la reprogrammation.

Conclusion : L'identification de gènes spécifiques régulés par des mécanismes épigénétiques au cours de la reprogrammation permettra de trouver de nouvelles cibles potentielles pour inhiber la conversion vers un état souche davantage résistant aux thérapies, dans le but de radiosensibiliser les tumeurs. Les solutions thérapeutiques ciblant les voies de signalisations impliquées dans le phénotype souche n'étant pas viables, notre objectif est de cibler des régulateurs clés des processus précoces de la reprogrammation, afin de la bloquer tout en évitant les effets délétères. Cette étude apporte également de nouveaux éléments dans la compréhension globale des mécanismes de plasticité des cellules cancéreuses.

Mots clés : *Plasticité, Cellules Souches Cancéreuses (CSC), Épigénétique, Méthylation de l'ADN, Bioinformatique, Radiothérapie, Cancer du sein*



17) Rôle des miARN dans l'hypersécrétion de catécholamines par les phéochromocytomes.

Inès DRISSA¹, Clémence BOULLIER¹, Aurélien QUILLET¹, Laurent YON¹, Youssef ANOUAR¹, Christophe DUBESSY^{1,2}

¹ Normandie Université, UNIROUEN, INSERM, Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine, 76000 Rouen, France

² Normandie Université, UNIROUEN, INSERM, PRIMACEN, 76000 Rouen, France

Les phéochromocytomes (PCC) sont des tumeurs neuroendocrines rares de la glande médullosurrénale qui sécrètent des taux élevés de catécholamines (dopamine, adrénaline et noradrénaline) dans la circulation sanguine, entraînant des répercussions cliniques graves telles que l'hypertension. Cette hypersécrétion est causée à la fois par la charge tumorale et par un dysfonctionnement de la voie de sécrétion régulée (VSR), dont les causes sont mal comprises. Cependant, plusieurs études suggèrent que les miARN, qui agissent comme des inhibiteurs post-transcriptionnels de la régulation des gènes, pourraient jouer un rôle dans le contrôle de la VSR. Dans cette perspective, nous avons développé une approche bioinformatique basée sur des logiciels d'analyse d'interaction (STRING-DB), de prédiction des cibles des miARN (mirDIP, miRabel) et de co-expression entre les miARN et leurs cibles (oncomiR). Une fois appliqué aux données d'expression des miARN (GSE29742) et des gènes (GSE19422) dans les phéochromocytomes, cela nous a permis d'identifier un sous-réseau d'interaction dans lequel 28 miARN et 38 gènes impliqués dans la VSR sont dérégulés dans les PCC par rapport à la glande surrénale normale. Afin d'étudier l'effet de ces miARN sur l'activité de la VSR, nous avons développé un test de sécrétion basé sur un rapporteur luminescent. À cette fin, le gène de l'hormone de croissance humaine (hGH1), dont la protéine est spécifiquement localisée dans les granules de sécrétion à cœur dense de la VSR, a été fusionné avec le gène de la Nano-luciférase (Nluc), puis exprimé dans une lignée cellulaire de PCC de rat (PC12-2luc). Nous avons montré que ce rapporteur est localisé dans des vésicules et qu'il est sécrété en réponse aux sécrétagogues habituellement utilisés (BaCl₂, PACAP, ATP, KCl et ionomycine) dans des proportions équivalentes à la dopamine synthétisée par ces cellules (2.2 à 3 fois). Après optimisation des conditions expérimentales, la grande sensibilité de notre approche (<100 cellules) a permis de miniaturiser ce test qui s'avère également reproductible (5%<CV<10%) et rapide à mettre en œuvre (20-30 min). Dans un test préliminaire avec miR-34a-5p, l'un des 28 miARN identifiés qui régule notamment les gènes VAMP2, STXBP1 et SYT1, nous observons une accumulation (+ 67%) du rapporteur luminescent dans les cellules PC12-2luc transfectées (10 nM) en conditions de repos, par rapport au contrôle négatif. De plus, en conditions stimulées (Ba²⁺, 2 mM), nous observons une diminution (- 39%) de la sécrétion de Nluc, confirmant la répression qu'exerce miR-34a-5p sur la VSR. Notre approche étant validée, nous criblons actuellement l'ensemble des miARN que nous avons préalablement identifiés, aussi bien au niveau fonctionnel que transcriptomique. La caractérisation de ce sous-réseau d'interactions miARN:ARNm impliqué dans le contrôle de la VSR permettra de mieux comprendre la dérégulation des mécanismes de sécrétion dans les tumeurs neuroendocrines telles que le PCC.

Mots clés : miARN, phéochromocytome, sécrétion régulée, catécholamines

NOTES



18) Etude de la co-expression et de la régulation de MUC1 et du système PD-1/PD-L1 dans le cancer du rein à cellules claires métastatique.

Bryan DUCROCQ ^{1,2}, Michael PERRAIS ¹, Viviane GNEMMI ^{1,2}, Sébastien AUBERT ^{1,2}, Xavier LEROY ²

¹ UMR 9020 CNRS - 1277 Inserm, Laboratoire CANTHER

² Service de Pathologie, CBP, CHU de Lille

Le cancer du rein de l'adulte est la troisième cause de cancer urologique. La forme histologique la plus fréquente est le carcinome à cellules claires (cRCC). Au stade évolué métastatique, la prise en charge est médicale. Elle repose sur l'utilisation de thérapies ciblées anti récepteurs à activité tyrosine kinase et de l'immunothérapie ciblant les inhibiteurs de check-points, en particulier le système PD-1/PD-L1. Néanmoins, la réponse clinique à ces thérapies reste difficile à prédire. MUC1 est une mucine membranaire connue pour jouer un rôle dans la progression tumorale et la mise en place d'un environnement immunosupresseur.

Nous avons constitué une série de 61 couples tumeur primitive / métastase issues du recrutement de l'Institut de Pathologie et du service d'urologie du CHU de Lille. Des études immunohistochimiques multiparamétriques ont été effectuées avec les marqueurs suivants : MUC1, PD-1, PD-L1, CD31, CD34, CD4, CD8, Granzyme B, FOXP3, CD20, CD163, et corrélées aux données anatomopathologiques et cliniques.

Les résultats préliminaires semblent montrer une corrélation entre l'expression de MUC1 et de PD-L1 au sein des tumeurs.

Notre but est d'identifier une signature de marqueurs pour évaluer la réponse thérapeutique et de mieux comprendre le rôle immunosupresseur de MUC1 dans le cRCC.

Mots clés : MUC1, PD-L1, Cancer du rein

NOTES



22) Potentiel thérapeutique du ciblage du long ARN non codant DNM3OS dans la fibrose hépatique, facteur de risque de l'hépatocarcinome.

Sandy FELLAH¹, Corentin DE SOUSA¹, Grégoire SAVARY¹, Cynthia VAN DER HAUWAERT^{1,2}, Nicolas POTTIER^{1,3}, Christelle CAUFFIEZ¹

¹ Univ.Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR 9020 - UMR 1277. Canther - Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Département de la recherche en santé, CHU Lille, F-59000 Lille, France

³ Service de toxicologie et génopathies, CHU Lille, F-59000 Lille, France

Introduction : L'hépatocarcinome (HCC) représente la 2ème cause de décès par cancer dans le monde. La fibrose constitue un facteur de risque majeur des HCC, 90% d'entre eux dérivent ainsi d'une fibrose avancée (ou cirrhose). La fibrose est un processus dynamique qui implique de nombreux types cellulaires dont les cellules stellaires (HSC, hepatic stellate cells), en particulier quand elles sont activées en myofibroblastes principalement sous l'effet du TGF- β . Cependant, le ciblage des HCC ou du TGF- β est délicat en raison respectivement de l'absence de récepteurs spécifiques aux HCC et du risque d'apparition d'effets indésirables de l'inhibition systémique du TGF- β . Récemment, notre laboratoire a démontré que le ciblage de l'ARN non codant DNM3OS à l'aide d'oligonucléotides antisens permet d'inhiber sélectivement les voies de signalisation du TGF- β dans les myofibroblastes pulmonaires. De manière intéressante, DNM3OS est le transcrit primaire de trois microARN, miR-199a-5p, miR-199a-3p et miR-214-3p. Nous souhaitons maintenant évaluer si la modulation pharmacologique de DNM3OS peut également représenter une stratégie thérapeutique efficace dans le contexte de la fibrose hépatique et à terme de l'hépatocarcinome.

Méthodes : Ce projet combine des approches expérimentales comprenant des lignées cellulaires, deux modèles murins de fibrose hépatique (ligature du canal biliaire et injections de CCl₄) ainsi que des technologies innovantes (séquençage en cellule unique et hybridation in situ RNAscope). L'utilisation d'oligonucléotides anti-sens de type gapmer permettra de tester le bénéfice potentiel du ciblage thérapeutique de DNM3OS sur le développement et la sévérité des lésions de fibrose.

Résultats : Dans la lignée d'HSC humaines (LX-2), le TGF- β induit une surexpression de DNM3OS et des trois miARN portés par ce transcrit primaire. De plus, la modulation pharmacologique de DNM3OS ou de miR-199a-5p a permis de démontrer leur implication dans le phénotype fibrotique (incluant la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes, la prolifération, l'accumulation des composants de la matrice extra-cellulaire...). Enfin, dans les deux modèles murins de fibrose hépatique utilisés, nous avons observé que l'expression de DNM3OS est fortement induite et limitée spécifiquement aux myofibroblastes.

Conclusion : DNM3OS joue un rôle majeur dans le développement de la fibrose hépatique. L'administration de molécules dirigées contre DNM3OS (gapmer) dans des modèles murins de fibrose hépatique permettra d'envisager la pertinence clinique de l'inhibition de DNM3OS pour les patients atteints de fibrose hépatique afin de réduire leurs risques de développer un hépatocarcinome.

Mots clés : DNM3OS, fibrose hépatique, long ARN non codant, microARN

NOTES



Poster

23) La pompe calcique SERCA2 : un potentiel biomarqueur prédictif de la réponse à la chimiothérapie des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire séreux de haut grade.

Romane FLORENT^{1,2,3,4}, Florence GIFFARD^{1,2}, Nicolas VIGNERON^{1,2,3}, Valentin HARTER^{2,5}, Benoît GOUDERGUES^{1,2,6,7}, Mélanie BRIAND^{1,2,6,7}, Nicolas ELIE^{1,2,3,8}, Cécile BLANC-FOURNIER^{1,2,3,6,7,9}, Laurent POULAIN^{1,2,3,4,6}, Monique N'DIAYE^{1,2,3}

¹ Inserm U1086 ANTICIPE 'Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la Prévention et le Traitement des Cancers' CLCC F. Baclesse, Caen, France

² UNICANCER, CLCC F. Baclesse, Caen, France

³ Normandie Université, Université de Caen, UFR Santé, Caen, France

⁴ Plateforme ORGAPRED, Normandie Université, Université de Caen, Inserm U1086 ANTICIPE, CLCC F. Baclesse, Caen, France

⁵ Centre de Traitement des Données du Cancéropôle Nord-Ouest, CLCC F. Baclesse, Caen, France

⁶ Centre de Ressources Biologiques « OvaRessources », CLCC F. Baclesse, Caen, France

⁷ Tumorothèque de Caen Basse Normandie, CHU, Caen, France et CLCC F. Baclesse, Caen, France

⁸ CMabio, Normandie Université, Université de Caen, UFR des Sciences, Caen, France

⁹ Département de Bio-Pathologie, CLCC F. Baclesse, Caen, France

Le sombre pronostic du cancer de l'ovaire s'explique notamment par une fréquence importante de la résistance à la chimiothérapie conventionnelle. La recherche de biomarqueurs prédictifs de la réponse clinique, pour identifier les patientes réfractaires et résistantes à la chimiothérapie, constitue donc une approche fondamentale pour orienter les patientes vers des alternatives au traitement conventionnel et ainsi éviter les échecs thérapeutiques.

De manière intéressante, les processus de cancérogenèse et de chimiorésistance s'accompagnent d'un remodelage profond de l'expression des acteurs de la signalisation calcique dans le but de promouvoir la survie des cellules cancéreuses. L'étude de l'expression différentielle de ces canaux et pompes calciques dans les cellules saines/cancéreuses et chimiosensibles/chimiorésistantes a permis de démontrer leur rôle fondamental en tant que marqueurs d'agressivité des cancers et marqueurs pronostiques mais aussi prédictifs de la réponse au traitement.

Néanmoins, peu de données ont été obtenues en ce qui concerne le cancer de l'ovaire. Dans ce contexte, nous avons réalisé une analyse bio-informatique sur les données de la cohorte du TCGA (The Cancer Genome Atlas), regroupant les analyses transcriptomiques de près de 300 tumeurs ovariennes. Nous avons étudié si l'expression génique basale, avant toute chimiothérapie, de 23 canaux/pompes calciques connus pour jouer un rôle dans le développement de différents cancers était corrélée à la précocité des récurrences. Les résultats obtenus montrent que la sous-expression du gène ATP2A2, codant la pompe calcique SERCA2, semble associée à la chimiorésistance des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire séreux de haut grade, qui est le sous-type histologique majoritaire des cancers de l'ovaire.

Pour compléter ces résultats, l'expression protéique de SERCA2 a été étudiée in situ par immunohistochimie sur un panel de 53 tumeurs issues de patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire séreux de haut-grade sensibles, partiellement sensibles, résistantes ou réfractaires à la chimiothérapie. La comparaison du niveau d'expression de la protéine SERCA2 entre ces quatre groupes de patientes a révélé une sous-expression de cette pompe calcique chez les patientes résistantes et réfractaires à la chimiothérapie par rapport aux patientes partiellement sensibles et sensibles, corroborant les résultats obtenus avec les données transcriptomiques de la cohorte du TCGA.

Nos résultats suggèrent donc que l'expression génique et protéique de SERCA2 est inversement corrélée à la résistance à la chimiothérapie, faisant de la pompe calcique SERCA2 un potentiel biomarqueur tumoral prédictif de la réponse à la chimiothérapie des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire séreux de haut grade. La confirmation de ce résultat sur une cohorte plus importante permettra de posséder un outil efficace pour orienter rapidement la décision thérapeutique et ainsi améliorer la prise en charge des cancers de l'ovaire.

Mots clés : Cancer de l'ovaire, chimiorésistance, biomarqueur prédictif de la réponse à la chimiothérapie, SERCA2



Session Jeunes chercheurs Poster

Nicolas GUEDENEY
(excusé)

27) Implication de XIAP dans la chimiorésistance des cellules tumorales : design de nouvelles molécules sélectives du domaine XIAP-BIR2.

Nicolas GUEDENEY, Chiara LO CAPUTO, Kevin ANTRAYGUES, Marie JOUANNE, Marc RAGUI, Jana SOPKOVÁ-DE OLIVEIRA SANTOS, Anne Sophie VOISIN-CHIRET, Charline KIEFFER

Centre d'Etude et de Recherche sur le Médicament de Normandie

L'apoptose, ou « mort cellulaire programmée » est un phénomène naturel qui participe au bon fonctionnement de l'organisme. Cependant, l'échappement à l'apoptose est l'une des caractéristiques qui rend les cellules cancéreuses immortelles et leur permet de développer une résistance à de nombreux traitements.[1] Rétablir l'apoptose dans ces cellules est donc une stratégie prometteuse pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses.

La protéine XIAP joue un rôle central dans le contrôle de ce processus. Surexprimée dans les cellules tumorales, elle exerce un effet anti-apoptotique, via l'inhibition des caspases 3, 7 et 9.[2,3] Cependant, au sein des cellules saines, il existe un inhibiteur naturel de XIAP, la protéine Smac. Le développement de molécules mimant cette interaction a été validé comme approche thérapeutique, et plusieurs composés ciblant XIAP sont aujourd'hui en phase d'évaluation clinique. Cependant plusieurs d'entre eux manquent de sélectivité et présentent des inconvénients et le risque de survenue d'un effet indésirable grave, le syndrome de relargage des cytokines.[4]

Notre projet vise à utiliser une méthode de *drug design* originale, pour concevoir des molécules plus sélectives de XIAP, possédant des structures totalement différentes des molécules existantes, afin de renforcer l'arsenal thérapeutique disponible.

Des premiers travaux informatiques de modélisation moléculaire, de criblage *in vitro* et de synthèse chimique nous ont permis de concevoir, puis d'obtenir une série de 30 petites molécules (fragments). Puis une première phase d'évaluation (FPA, Alphascreen®) nous a finalement permis d'identifier un motif indispensable à la liaison au domaine XIAP-BIR2.[5] De nouveaux travaux de synthèse chimique nous permettent de continuer à améliorer la sélectivité et l'affinité de ce squelette.[6,7] Cette 2e génération de molécules est évaluée *in vitro*, sur des modèles biophysique et cellulaire, afin d'identifier un composé pouvant par la suite être testé *in vivo*.

En parallèle de ces objectifs, nous apportons également un soin particulier à la sélection de molécules présentant une bonne pharmacopotentialité, pour améliorer leurs chances de devenir un jour des médicaments.

[1] Hanahan D., et al. *Cell* 2011, 144, 646-674; [2] Chessari G., et al. *J. Med. Chem.* 2015, 58, 6574-6588; [3] Rathore R., et al. *Apoptosis* 2017, 22, 898-919; [4] Cong H., et al. *J. Med. Chem.* 2019, 62, 5750-5722; [5] Kieffer C. et al. *Drug Disc. Today* 2020, 25, 1592-1603; [6] Lukacs C., et al. *Acta Cryst.* 2013, D69, 1717-1725; [7] Donnell A. F., et al. *J. Med. Chem.* 2013, 56, 7772-7787

Mots clés : Cancer, Interaction protéine-protéine, Apoptose, XIAP, Chimie médicinale, Drug design

NOTES



28) Caractérisation fonctionnelle des nouvelles mutations du récepteur MET dans le cancer du rein et du poumon.

Célia GUERIN ^{1,2}, Marie FERNANDES ^{1,2}, Clotilde DESCARPENTRIES ³, Etienne ROULEAU ⁴, Alexis B CORTOT ⁵

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Institut Pasteur de Lille, F-59000 Lille, France

³ Univ Lille, Department of Molecular Oncology, CHU Lille, F-59000, Lille, France

⁴ Department of Medical Biology and Pathology, Gustave Roussy Cancer Centre, Villejuif, France

⁵ Univ. Lille, Thoracic Oncology Department, CHU Lille, F-59000, France

Depuis quelques années, les thérapies ciblées ont révolutionné la prise en charge des patients souffrant d'un cancer présentant une altération moléculaire. Le récepteur MET, un récepteur à activité tyrosine kinase exprimé majoritairement à la surface des cellules épithéliales, est une cible prometteuse de ces thérapies. En effet, MET présente des mutations activatrices notamment dans le cancer du rein et du poumon. Les mutations localisées dans le domaine kinase ou touchant des domaines régulateurs conduisent à une activation constitutive de MET et conditionnent l'efficacité d'inhibiteur ciblant l'activité kinase. Grâce au progrès et la systématisation du séquençage haut-débit, de nouvelles mutations de MET ont récemment été répertoriées à partir de larges cohortes de patients mises en place à l'Institut Gustave Roussy pour le cancer du rein héréditaire et au CHU de Lille pour le cancer du poumon non à petites cellules. Cinq mutations sont localisées dans le domaine kinase (H1086L, H1097R, I1102T, C1125G et D1249E), suggérant une activation de la kinase. En revanche, celles localisées le domaine extracellulaire (V37A et R426P) et dans le domaine juxtamembranaire (G1056E et S1018P) suggèrent l'implication de mécanismes d'activation originaux.

Le manque de données fonctionnelles sur ces nouvelles mutations ne permet pas l'utilisation d'un traitement ciblé pour ces patients. Mon objectif est donc de déterminer l'influence de ces mutations sur la transformation cellulaire, sur l'activité du récepteur, sur les réponses biologiques régulées par MET et enfin sur la tumorigenèse *in vivo*.

J'ai d'abord reconstitué l'ensemble de ces mutations en vecteur d'expression. Ces constructions permettent d'évaluer les capacités transformantes de chaque mutant par un test de transformation de fibroblastes. Mes premiers résultats indiquent déjà que les mutations extracellulaires V37A et R426P et juxtamembranaire G1056E induisent une transformation modérée alors que la mutation du domaine kinase I1102T induit une transformation plus importante. Ces résultats préliminaires suggèrent qu'au moins quatre mutations sont activatrices. Les autres mutants sont en cours d'évaluation.

Les mutants présentant une activité transformante seront ensuite exprimés en cellules épithéliales pulmonaires et rénales permettant une étude fonctionnelle plus fine. Ainsi, nous avons éteint par CRISPR-Cas9 l'expression de MET endogène dans les cellules pulmonaires normales 16HBE. Une démarche similaire est en cours pour les cellules rénales normales HK2. Dans ces cellules, l'expression des formes mutantes sera reconstituée par transfection stable des vecteurs d'expression. Dans ces lignées, j'analyserai d'abord l'activation de MET. Pour les mutations extracellulaires, j'analyserai plus spécifiquement la capacité du récepteur à s'associer à son ligand par des tests de mesure d'interaction ligand/récepteur. Pour les mutations juxtamembranaires dans lequel siège plusieurs sites de régulation, je déterminerai si elles affectent son internalisation ou sa dégradation. Ensuite, je déterminerai en réponse ou non à son ligand l'HGF les réponses biologiques normalement induites par MET incluant la migration et l'invasion. Parallèlement, une analyse transcriptomique à haut-débit nous permettra de reconstituer le réseau de régulation de chaque mutant et de le comparer à celui du récepteur sauvage ou à celui induit par des mutations activatrices connues que nous avons déjà déterminé. Nous déterminerons ensuite si ces modèles cellulaires injectés en souris transgéniques immunodéprimées exprimant ou non l'HGF humain sont capables de favoriser la croissance tumorale. Si des mutations favorisent la progression tumorale, nous testerons l'efficacité d'inhibiteurs de MET utilisés en clinique à inhiber cette réponse.

Cette étude fonctionnelle permettra d'une part de caractériser ces nouvelles mutations de MET non seulement localisées dans le domaine kinase, mais aussi dans le domaine extracellulaire et juxtamembranaire pouvant conduire à l'identification de nouveaux mécanismes d'activation. De plus, cette étude nous permettra de déterminer leurs réponses aux inhibiteurs de MET apportant un rationnel fort pour le traitement de ces patients avec une thérapie ciblée.

Mots clés : Cancer du poumon, Cancer du rein, Thérapies ciblées, Récepteur tyrosine kinase, Mutations activatrices



29) Rôle de PRDM1 et KDM4B dans le caractère souche des cellules cancéreuses coliques.

Elsa HADJ BACHIR, Belinda DUCHENE, Sonia PAGET, Nicolas JONCKHEERE, Bernadette NEVE, Isabelle VAN SEU-
NINGEN, Audrey VINCENT

Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies,
F-59000 Lille, France

Selon l'Institut National du Cancer, les cancers du côlon-rectum (CCR) sont la deuxième cause de décès par cancer en France avec une surmortalité observée dans la région des Hauts de France. L'un des enjeux des traitements des CCR est de prévenir la rechute en éradiquant les cellules qui en sont responsables, et notamment les cellules souches cancéreuses (CSC). De manière intéressante, de nombreuses études y compris au sein du laboratoire, tendent à montrer que les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles des cellules souches sont en grande partie orchestrées par des mécanismes épigénétiques. Les modifications épigénétiques (méthylation de l'ADN, modifications post-traductionnelles d'histones) sont réversibles et seraient à l'origine de l'équilibre entre l'état souche et l'état différencié via une modulation de l'expression de partitions complètes de gènes.

Récemment, une méta-analyse réalisée à partir des données transcriptomiques publiques issues de plusieurs centaines de tissus de patients (*Colorectal Cancer Subtyping Consortium*, Guinney et al., 2015) nous a permis d'identifier les enzymes épigénétiques, «épienzymes», dont l'expression est corrélée au sous-type moléculaire consensus le plus agressif, le CMS4. En analysant ensuite la corrélation d'expression de ces épienzymes avec la combinaison de trois marqueurs fonctionnels de CSC CD44, CD133 et CD166, nous avons identifié 72 épienzymes dont l'expression pourrait être positivement associée au caractère souche (Vincent et al., 2019). Parmi ces dernières, figure la lysine déméthylase KDM4B et le facteur répresseur PRDM1 connus pour leur implication dans la différenciation cellulaire physiologique. Ces deux épienzymes ont un rôle antagoniste dans l'apposition de la mono/di-/tri-méthylation de la lysine 9 de l'histone H3 (H3K9), marque épigénétique jouant un rôle essentiel dans la régulation de CD44, CD133 et CD166. Néanmoins l'implication de ces deux épienzymes dans le caractère souche des cellules cancéreuses coliques reste méconnu à ce jour.

Nous disposons au laboratoire de lignées cellulaires cancéreuses coliques humaines, les HT-29, et leur dérivé chimiorésistant au 5-Fluorouracile HT29-5F31, les SW480 et leur dérivé métastatique SW620. A ce jour, nous avons comparé le profil d'expression des transcrits de *PRDM1* et *KDM4B* dans ces lignées cellulaires, néanmoins nous n'avons pas établi de corrélation positive d'expression dans les apparentés représentatifs de l'état souche (HT29-5F31 et SW620). De ce fait, nous envisageons de réitérer cette analyse sur des sous populations cellulaires triées, sur la base de l'expression des trois marqueurs de CSC coliques.

En parallèle, nous avons réalisé une étude de la localisation subcellulaire de nos deux épienzymes d'intérêt par une observation en microscopie confocale d'un marquage immunofluorescent. La localisation nucléaire de KDM4B est dépendante de la lignée cellulaire étudiée, avec un enrichissement dans la lignée HT29-5F31 et SW480.

L'étude de l'effet du *knockdown* (siRNA, Dharmacon) des deux épienzymes sur le potentiel souche des cellules cancéreuses a été initiée par des tests fonctionnels en conditions de culture non adhérente. Cette stratégie transitoire a, dans un premier temps, l'avantage de mimer un inhibiteur spécifique de chacune des épienzymes, dont l'effet est maximal au moment de l'initiation de la formation des sphéroïdes. Nos premiers résultats indiquent un rôle fonctionnel opposé de PRDM1 et KDM4B.

De plus, afin de déterminer la contribution des épienzymes dans la régulation génique des marqueurs de CSC (CD44, *PROM1*^{CD133} et *ALCAM*^{CD166}) et de différenciation (*MUC2*), nous avons adopté une stratégie d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP-qPCR). Ainsi, nous avons mis en évidence que KDM4B se fixe sur les promoteurs des gènes codant les marqueurs de CSC coliques alors que PRDM1 en est globalement absente.

En résumé, ce travail aura permis de révéler KDM4B en tant qu'actrice putative de la régulation positive du caractère souche au sein de nos modèles. Toutefois, PRDM1 et KDM4B ne peuvent à elles seules expliquer la dynamique de régulation de l'état souche cellules cancéreuses coliques. C'est pourquoi, cinq autres épienzymes candidates sont à l'étude.

In fine, le présent projet permettra d'identifier des complexes épigénétiques régulateurs de l'état souche qui constitueront de potentielles nouvelles cibles thérapeutiques dans la prise en charge des CCR.

Mots clés : Epigénétique, cellules souches, cancer colorectal, agressivité tumorale



Poster

30) Cancer de la prostate et Covid-19 : rôle des androgènes dans la régulation de l'expression de *TMPRSS2*, protéase majeure dans l'infection virale au SARS-CoV-2.

Aline HANTUTE-GHESQUIER^{1,2}, Anthony TURPIN^{1,2}, Anne FLOURENS^{1,2}, Nathalie VANPOUILLE^{1,2}, Yvan DELAUNOIT^{1,2}, David TULASNE^{1,2}, Valentin SENCIO³, François TROTTEIN³, Sandrine BELOUZARD³, Martine DUTERQUE-COQUILLAUD^{1,2}

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Institut Pasteur de Lille, F-59000 Lille, France

³ Université Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR 9017-CIIL-Center for Infection and Immunity of Lille, Lille, France

Objectif : Depuis l'apparition de la pandémie liée au SARS-CoV-2, on constate que la Covid-19 est plus grave chez les hommes que chez les femmes. Les effets physiologiques des androgènes figurent parmi les facteurs qui pourraient contribuer à cette différence. En outre, on sait déjà que le gène *TMPRSS2*, qui code une protéase cruciale pour l'infection virale, est régulé par les androgènes et est fortement exprimé dans le cancer de la prostate. Notre objectif est d'étudier les liens de ce cancer avec la Covid-19 et plus particulièrement entre les thérapies anti-androgéniques et la gravité de la maladie, dans le but d'optimiser la prise en charge des patients.

Résultats : L'analyse *in vitro* de l'expression des ARN et protéines de plusieurs lignées prostatiques et pulmonaires a permis de confirmer que l'expression de ACE2, récepteur du virus, et de *TMPRSS2* était indispensable à l'infection au SARS-CoV-2 puisqu'aucune lignée à faible expression de ces protéines n'est infectable.

Nous avons choisi d'exprimer ACE2 de manière stable, via un lentivirus, dans une lignée de cellules prostatiques hormono-dépendantes pour mesurer l'effet de la modulation hormonale du gène *TMPRSS2* sur le taux d'infection des cellules *in vitro*. Cette expérience a eu pour effet, d'une part de rendre cette lignée infectable, mais également de moduler le taux d'infection via l'effet des androgènes sur l'expression de *TMPRSS2*. C'est un nouveau modèle d'infection qui permet une modulation du taux d'infection cellulaire de manière hormono-dépendante.

En parallèle, *in vivo*, nous avons utilisé un modèle de hamster, seul modèle animal naturellement infectable, pour étudier l'effet des androgènes sur l'infection au SARS-CoV-2 et la gravité de la maladie. La suppression androgénique a été obtenue par castration des animaux. Ils ont été sacrifiés 4 jours après infection, plusieurs organes ont été prélevés pour évaluer le degré de gravité de la maladie, la présence du virus, et pour suivre l'expression des gènes *TMPRSS2*, *ACE2* mais aussi *NRP1*, nouvel acteur impliqué dans l'infection et connu pour être régulé par les androgènes. Nos premiers résultats montrent des différences d'infection et d'inflammation pulmonaires chez les hamsters castrés par rapport aux non castrés, suggérant un effet des androgènes.

Enfin, grâce à la cohorte nationale multicentrique, CACOV-19, menée par les groupes coopérateurs en oncologie pendant la première vague de Covid-19, nous évaluerons la gravité de l'infection chez des patients atteints de cancers selon qu'ils soient traités ou non par hormonothérapie.

Conclusion : Les résultats que nous attendons seront utiles à la fois pour mieux comprendre les rôles possibles des androgènes dans l'infection virale à SARS-CoV-2, et pour optimiser la prise en charge des patients atteints d'un cancer de la prostate en contexte pandémique.

Mots clés : Cancer de la prostate, Covid-19, androgènes, infection SARS-CoV-2



Poster

32) Régulation spécifique de l'expression de la molécule checkpoint PD-L1, dépendante de la signalisation JAK/STAT et de la DNA Damage Response, dans les cellules de Cancer Epidermoïde de la Tête et du Cou exposées au 5-fluorouracile.

Claire LAILLER ^{1,2}, Michele LAMURAGLIA ³, Floriane RACINE ^{1,2}, Christophe LOUANDRE ^{1,2}, Corinne GODIN ^{1,2}, Bruno CHAUFFERT ^{2,3}, Antoine GALMICHE ^{1,2}, Zuzana SAIDAK ^{1,2}

¹ Laboratoire de Biochimie, Centre de Biologie Humaine (CBH), CHU Sud, Amiens

² UR7516 CHIMERE, Université de Picardie Jules Verne, Amiens

³ Laboratoire d'Imagerie Biomédicale (LIB), Sorbonne Université, CNRS, INSERM, Oncologie Médicale, CHU Sud, Amiens

Objectifs : Le checkpoint immunitaire PD-L1 (CD274) est un régulateur crucial de la réponse immunitaire adaptative anti-tumorale. Son expression a été rapportée en immunohistochimie dans des pièces tumorales de Cancers épidermoïdes de la Tête et du Cou (CETC) exposées au protocole de chimiothérapie TPF (Leduc *et al.*, 2018). On connaît mal les effets comparés des différentes molécules approuvées en thérapeutique et la façon dont elles régulent l'expression de PD-L1 reste mal connue.

Matériels et Méthodes : Nous avons utilisé trois lignées de CETC (BICR6, PE/CA-PJ34 et PE/CA-PJ41) pour analyser l'expression de PD-L1 par western-blot, immunofluorescence et QPCR. Nous avons aussi utilisé des données de RNA-seq single cell disponibles en libre accès.

Résultats : Le 5-fluorouracile (5-FU) augmente efficacement l'expression de PD-L1 dans les CETC. L'effet du 5-FU sur l'expression de PD-L1 est lié à l'effet génotoxique du 5-FU, étant inhibé par l'ajout de thymidine ou par l'utilisation d'un inhibiteur chimique des kinases ATM/ATR (des acteurs de la DNA Damage Response). Nous avons montré que l'effet du 5-FU est additif ou synergique avec celui de l'IFN- γ , l'inducteur canonique de PD-L1 dans les cellules épithéliales, et passe par la phosphorylation de STAT1 dans ces cellules. Ces résultats sont confirmés par l'analyse en QPCR, qui confirme l'activation des JAK (Janus kinases) comme mécanisme sous-jacent de l'activation transcriptionnelle de PD-L1/CD274. L'induction de PD-L1 par le 5-FU est partiellement inhibée par le cetuximab, un inhibiteur de l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor).

Conclusion : Nos travaux soulignent l'induction spécifique de PD-L1 par le 5-FU, par un mécanisme dépendant de la DNA Damage Response et de l'activation de JAK dans les cellules de CETC. Cette induction est régulée par le contexte cytokinique et est potentiellement actionnable en thérapeutique.

Ces travaux ont été acceptés pour publication dans la revue Translational Oncology le 21/04/2021.

Mots clés : Cancer Epidermoïde de la Tête et du Cou, PD-L1, 5-fluorouracile, DNA Damage Response, ATM/ATR, JAK, STAT1, cetuximab

NOTES



34) Modulation Phénotypique et Fonctionnelle des Cellules Dendritiques Humaines générées en présence des Exosomes de Carcinome du Nasopharynx.

Anthony LEFEBVRE¹, Sarah RENAUD^{1,2}, William LAINE³, Benjamin HENNART⁴, Delphine ALLORGE⁴, Camille TRIOËN^{1,3}, Jérôme KLUZA³, Nadira DELHEM¹, Olivier MORALES^{1,5}

¹ INSERM U1189 OncoThAI - Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, Institut de Biologie de Lille, France

² Immune insight, Institut de Biologie de Lille, France

³ INSERM UMR9020 - UMR-S 1277 - Canther - Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

⁴ CHRU de Lille, Laboratoire de Toxicologie, Lille, France

⁵ CNRS UMS 3702

Contexte : Le carcinome du nasopharynx (CNP) est caractérisé par une prévalence de lymphocytes T régulateurs (Treg) et la production massive d'exosomes tumoraux (exoCNP) aux propriétés immunosuppressives. Notre équipe a montré que ces exosomes favorisent l'activité suppressive des Treg et leur recrutement via la chimiokine CCL20 favorisant ainsi l'échappement de la tumeur à la réponse immunitaire (Mrizak et al., JNCI, 2015). Plus récemment, notre équipe a montré que ces exosomes pouvaient altérer la maturation des cellules dendritiques en faveur de l'émergence d'un phénotype tolérogène (tDC). Dans ce contexte, les objectifs de cette étude sont (i) d'analyser et de comparer le statut métabolique des DC matures (mDC) et des tDC contrôles avec les tDC générées en présence d'exosomes de CNP (ExoCNPtDC) et (ii) d'analyser le potentiel chemoattracteur des exosomes de CNP sur les ExoCNPtDC, en évaluant plus particulièrement le rôle de la CCL20 dans ce recrutement.

Méthodes : Les DC sont générées à partir de monocytes humains en présence ou non d'exosomes tumoraux de CNP. L'état de maturation des DC, a été évalué d'un point de vue phénotypique mais aussi fonctionnel. Concernant le phénotype, nous avons regardé l'expression de marqueurs de maturation ainsi que le statut métabolique des DC en utilisant respectivement de la cytométrie en flux et la technologie Seahorse® (métabolisme mitochondriale et glycolytique en mesurant l'OCR et l'ECAR). Pour définir la fonction des DC générées, nous avons quantifié la production de cytokines par les DCs via la technique ELISA et mesuré également le taux de prolifération des lymphocytes T CD3 totaux mis en co-culture avec les différentes DC générées. Enfin, le potentiel chemoattracteur des exosomes sur les différents DC générées a été analysé (i) par des tests de chemoattraction en chambre de Boyden et par vidéomicroscopie en temps réel (Chemotaxis μslide IBIDI) ainsi que (ii) par une analyse de l'expression du récepteur à la CCL20 : C-C Chemokine Receptor 6 (CCR6) en RT-qPCR.

Résultats : L'étude de l'état de maturation des DC induites par les exosomes de CNP a démontré que les ExoCNPtDC possèdent une expression de marqueurs de maturation semblable aux DC mature contrôle. Néanmoins, d'un point de vue métabolique, il semblerait que les ExoCNPtDC possèdent un profil proche de celui des tDC contrôle. Ces observations phénotypiques semblent démontrer que les exoCNP modulent la maturation des DC vers un phénotype semi-mature appelé aussi tolérogène. D'un point de vue fonctionnel, nous avons démontré que les DC générés à partir des exosomes de CNP possèdent un défaut de sécrétion de cytokines pro-inflammatoire (IL-6 et IL-12p70) traduisant un défaut de maturation. Concernant leur capacité à activer les lymphocytes T CD3 totaux, les ExoCNPtDC montrent également un défaut de leur capacité activatrice. Cela se traduit par une diminution de prolifération des lymphocytes T mis en co-culture avec nos DC. Cette observation fonctionnelle, conforte l'hypothèse que les DC générées par les exoCNP sont tolérogènes ce qui pourrait entrainer l'induction de Treg contribuant à l'échappement immunitaire. Enfin, concernant le potentiel chemo-attracteur des exosomes de CNP sur les ExoCNPtDC, nous avons démontré que les exoCNP attirent préférentiellement les ExoCNPtDC en comparaison avec les mDC. Dans ce contexte, nous avons posé l'hypothèse de l'implication de la CCL20 dans ce processus de chemo-attraction et démontré dans un premier temps une augmentation de l'expression de la CCR6 dans les ExoCNPtDC. Ces premiers résultats, suggéreraient que l'attraction des ExoCNPtDC implique la CCL20.

Conclusion : Dans cette étude, nous avons démontré que les exosomes dérivées de CNP modulent à la fois le phénotype et la fonction des cellules dendritiques en faveur de cellules dendritiques tolérogènes. L'ensemble des résultats préliminaires, permettent de valider et de décrire le rôle majeur des exosomes tumoraux de CNP dans la promotion de la tolérance immunitaire au sein du microenvironnement du CNP. Ainsi, les exosomes pourraient être considéré comme de potentiels nouvelles cibles thérapeutiques afin de lutter contre l'échappement immunitaire des carcinomes du nasopharynx.

1. Mrizak D, Martin N, Barjon C, Jimenez-Pailhes A-S, Mustapha R, Niki T, et al. Effect of nasopharyngeal carcinoma-derived exosomes on human regulatory T cells. *J Natl Cancer Inst.* janv 2015;107(1):363.

Mots clés : Carcinome du Nasopharynx, Exosomes tumoraux, Cellules Dendritiques, Métabolisme



36) La RT-MLPA : outil de criblage à haut débit permettant l'étude ciblée de l'épissage.

Corentin LEVACHER¹, Mathieu VIENNOT², Ludivine BEAUSSIRE³, Aurélie DROUET¹, Stéphanie BAERT-DESURMONT⁴, Marick LAÉ³, Philippe RUMINY², Claude HOUDAYER⁴

¹ Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Université, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen

² Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Université, Centre Henri Becquerel, Rouen.

³ Département de Pathologie, UNIROUEN, Normandie Université, Centre Henri Becquerel, INSERM U1245, Rouen.

⁴ Service de génétique, CHU Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, FHU G4, Normandie Université, UNIROUEN, Inserm U1245, Rouen.

Les variations de l'épissage jouent un rôle clef lors de la tumorigenèse. Afin de les documenter, nous avons adapté la RT-MLPA, initialement conçue pour mesurer l'expression génique. Un total de 114 sondes, explorant la totalité des transcrits alternatifs rapportés dans les bases de données, a permis l'analyse qualitative et quantitative des ARN messagers (ARNm) des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire. Des sondes spécifiques interrogeant 10 SNPs exoniques ont été ajoutées pour mesurer le niveau d'expression des 2 allèles. Nous avons sélectionné 72 patientes mutées *BRCA1* ou *BRCA2* en constitutionnel, dont, à titre de contrôle, 3 mutations d'épissage, 3 grandes délétions et 2 grandes duplications. Nous disposons d'échantillons fixés au formol et inclus dans la paraffine (FFPE) de 23 tissus mammaires tumoraux et sains adjacents, de 32 tissus mammaires sains issus de mammectomies prophylactiques et de 42 tissus provenant d'annexectomies prophylactiques (ovaire et trompe). Les différents transcrits alternatifs connus et ceux résultant des mutations d'épissage, des grandes délétions et des grandes duplications ont été correctement identifiés. Cela suggère que pour ces échantillons FFPE les ARNm porteurs d'une variation tronquante échappent au NMD. De plus, des variations d'épissage probablement pathogènes, absentes dans les tissus sains, sont présentes dans les tissus mammaires tumoraux. Afin de compléter ces résultats, nous avons également analysé les échantillons FFPE de tissus mammaires tumoraux et sains adjacents de 98 patientes non mutées *BRCA1* et *BRCA2* en constitutionnel. Des variations d'épissage entre tissus sains et tissus tumoraux sont également observées. De plus, l'expression relative de *BRCA1* et *BRCA2* est différente entre tissus mammaires tumoraux et sains. Ces résultats valident la RT-MLPA comme outil simple de criblage de l'épissage en qualitatif et quantitatif ciblé à haut débit. Sont actuellement en cours de développement, un panel de gènes plus large, comprenant 1000 sondes, ainsi qu'un outil bio-informatique nécessaire à l'analyse de ces nombreuses données.

Mots clés : RT-MLPA, Épissage, BRCA1/BRCA2, Tumorigenèse

NOTES



Poster

39) La combinaison de la radiothérapie stéréotaxique hypofractionnée avec une cure unique d'anti PD1 conduit à une réponse complète chez un patient atteint d'un mélanome.

Clara MILHEM ^{1,2}, Céline INGELAERE ¹, Olivier MORALES ², David PASQUIER ³, Xavier MIRABEL ³, Serge MORDON ², Laurent MORTIER ⁴, Nadira DELHEM ²

¹ Immune Insight, Institut de Biologie de Lille, France

² INSERM U1189 OncoThAI - ImmunoPDT et Immunothérapies des cancers, Institut de Biologie de Lille, France

³ Service de Radiothérapie, Centre Oscar Lambret, Lille, France

⁴ Service de dermatologie, Hôpital Huriez, Lille, France

Contexte : L'arsenal thérapeutique antitumoral a récemment évolué avec le développement de l'immunothérapie et notamment des inhibiteurs de checkpoint immunitaires. Cela a permis une augmentation significative de la survie globale. Le défi actuel reste de trouver des patients bons répondeurs en identifiant des biomarqueurs précoces pour proposer des combinaisons thérapeutiques et potentialiser l'efficacité de l'immunothérapie. Nous rapportons ici le cas d'un homme de 60 ans atteint d'un mélanome superficiel traité par radiothérapie hypofractionnée à haute dose (H-SRT) associée à une cure unique d'immunothérapie anti-PD1 (Nivolumab) pour une récurrence ganglionnaire métastatique due à la progression du cancer.

Objectif : Évaluer la régulation de la réponse immunitaire lors d'un traitement par H-SRT suivi d'un traitement par nivolumab et éventuellement caractériser des marqueurs biologiques qui pourraient être utilisés pour déterminer l'efficacité du traitement.

Méthodes : Des prélèvements sanguins ont été effectués chez un patient traité par H-SRT, avec 3 séances de 12 gray, et une seule cure d'immunothérapie anti-PD1 qui présente une rémission complète sans aucune lésion progressive. Les prélèvements ont été effectués à différents moments du traitement (avant la première séance, 15 minutes après chacune des 3 séances d'irradiation puis 1 semaine, 3 mois, 6 mois et 12 mois après la dernière séance). Un immunomonitoring a ensuite été réalisé sur les PBMCs par cytométrie de flux et qPCR. Le sérum et le plasma sont également collectés pour effectuer des analyses de sécrétion (Cytokines et exosomes).

Résultats : Les résultats montrent que la combinaison de l'H-SRT avec l'immunothérapie anti-PD1 peut permettre une meilleure activation de la réponse immunitaire en faveur d'une réponse clinique complète. Dans l'ensemble, nos résultats ont montré une activation des lymphocytes après la radiothérapie, suivie d'une diminution de l'activation pendant la rechute du cancer. Cependant, après de l'injection unique d'anti-PD1, le statut immunitaire des patients a évolué en faveur d'une activation de la réponse immunitaire. De plus, nos résultats décrivent de manière intéressante un rôle potentiel des exosomes dans l'activation des cellules immunitaires après la radiothérapie à haute dose mais pas après l'introduction du Nivolumab.

Conclusion : Tous ces résultats, bien que préliminaires, ouvrent des perspectives thérapeutiques intéressantes et posent la question de la nécessité de combiner les thérapies pour optimiser la réponse aux traitements. Il semble que la combinaison de la H-SRT avec l'immunothérapie anti-PD1 puisse permettre une meilleure activation de la réponse immunitaire en faveur d'une réponse clinique complète.

Mots clés : Radiothérapie, Mélanome, Anti PD1, Réponse complète, Mort immunogène



46) Recherche d'une signature prédictive de la réponse à différents inhibiteurs de Mcl-1 sur un panel d'organoïdes tumoraux ovariens.

Hippolyte PAYSANT^{1,2}, Romane FLORENT^{1,2,3}, Lucie LECOUFFLET^{1,2,3}, Guillaume DESMARTIN^{1,2,3}, Florence GIFFARD^{1,2}, Nicolas ELIE⁴, Edwige ABEILARD^{1,2}, Emilie BROTON^{1,2,5}, Christophe DENOYELLE^{1,2,5}, Mélanie BRIAND^{1,2,6}, Jocelyn PEZERIL^{1,2}, Jean-François LEBRUN⁷, Sandrine MARTIN⁷, Enora DOLIVET⁷, Cécile BLANC-FOURNIER^{1,2,6,8}, Florence JOLY^{1,2,9}, Matthieu MERYET FIGUIERE^{1,2}, Martin FIGEAC¹⁰, Louis-Bastien WEISWALD^{1,2,3}, Laurent POULAIN^{1,2,3,6}

¹ Normandie Univ, UNICAEN, Inserm U1086 ANTICIPE, 'Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la Prévention et le Traitement des Cancers', Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris - Caen

² UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris - Caen

³ Université de Caen Normandie UNICAEN, INSERM U1086 ANTICIPE, Plateforme ORGAPRED, Caen, France

⁴ Centre De Microscopie Appliquée À La Biologie, Sf 4206 Icore, Université De Caen - Caen

⁵ Plateforme Impedancell, Sf 4206 Icore, Université De Caen - Caen

⁶ Centre de Ressources Biologiques 'OvaRessources' - NF 596900, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris - Caen

⁷ Département De Chirurgie, Centre De Lutte Contre Le Cancer F. Baclesse, 3 Avenue Du Général Harris - Caen

⁸ Département de Biopathologie, Centre De Lutte Contre Le Cancer F. Baclesse, 3 Avenue Du Général Harris - Caen

⁹ Département De Recherche Clinique, Centre De Lutte Contre Le Cancer F. Baclesse, 3 Avenue Du Général Harris - Caen

¹⁰ Université de Lille, Plateau de génomique fonctionnelle et structurale, CHU Lille - Lille

Les cancers de l'ovaire représentent actuellement la première cause de mortalité par cancer gynécologique chez la femme avec plus de 185000 décès par an dans le monde. Ce chiffre élevé s'explique en partie par un échappement aux traitements conventionnels. La surexpression de deux partenaires anti-apoptotiques de la famille Bcl-2, que sont Mcl-1 et Bcl-xL, peut conduire à une forte résistance à la mort cellulaire par apoptose et a été associée à la chimiorésistance. L'inhibition de l'une ou l'autre de ces protéines est parfois suffisante pour induire l'apoptose des cellules cancéreuses, offrant de nouvelles perspectives pour l'utilisation des molécules BH3-mimétiques conçues pour les inhiber. Ces constatations ont abouti à la proposition d'essais cliniques dans des contextes de cancers hématologiques et/ou de tumeurs solides, en association ou non à d'autres thérapies déjà existantes. Le challenge majeur pour le succès de ces stratégies reste cependant l'identification des patients répondeurs à l'une de ces thérapies, sur la base de signatures moléculaires (protéiques ou transcriptomiques) ou de tests fonctionnels.

Le laboratoire dispose de modèles d'organoïdes tumoraux (tumoroïdes) dérivés de cancers de l'ovaire. De tels modèles ont montré leur pertinence dans la représentation de l'hétérogénéité de la tumeur d'origine et leur réponse semble relativement bien corrélée à la réponse clinique des tumeurs dont ils dérivent. Outre leur potentiel intérêt prédictif dans le cadre de stratégies de médecine de précision, ces modèles peuvent ainsi être utilisés pour l'évaluation de l'activité de nouveaux médicaments et/ou pour l'identification de signatures moléculaires prédictives. Nous souhaitons ainsi utiliser une cohorte de lignées de tumoroïdes ovariens prochainement caractérisés en termes de profil d'expression transcriptomique pour évaluer les éventuelles différences de réponse à un panel de molécules pharmacologiques inhibitrices de Mcl-1 et rechercher des signatures prédictives. Quinze de ces modèles seront exposés à 4 inhibiteurs de Mcl-1 (AZD-5991, AMG-176, S63845 et Pyridoclox) afin d'observer leurs effets en agent seul. Sur la base de résultats antérieurs obtenus sur des lignées cellulaires ovariennes chimiorésistantes, les modèles de tumoroïdes utilisés seront exposés 72h aux agents pharmacologiques précités et la surface occupée par les tumoroïdes sera suivie en temps réel. A l'issue du traitement, la réponse des tumoroïdes sera évaluée par un test de métabolisme, reflet de leur viabilité, afin de calculer une IC50 et de hiérarchiser les différents modèles et molécules. Les résultats préliminaires montrent des différences de réponses entre les premiers modèles évalués, voire entre certaines des molécules testées. La caractérisation immunohistochimique (réalisée sur TMA (tissu-micro array)) du niveau d'expression de l'ensemble des protéines de la famille Bcl-2 et de certaines protéines régulatrices des voies de signalisation impliquées dans le contrôle de l'apoptose (AKT/mTOR, ERK...) est en cours de réalisation sur ces tumoroïdes ainsi que leur caractérisation transcriptomique.

Les résultats des tests fonctionnels (exposition directe des tumoroïdes aux inhibiteurs pharmacologiques et évaluation de leur réponse aux traitements) nous permettront de classer les tumoroïdes (et à terme les patients) comme «sensibles», «partiellement sensibles» ou «résistantes» à ces thérapies ciblées dirigées contre Mcl-1. La corrélation de ces résultats avec les analyses moléculaires pourrait permettre la définition d'une signature moléculaire prédictive de la sensibilité aux molécules concernées et de proposer ainsi une adaptation des protocoles cliniques sur la base de telles signatures, y compris dans le cadre de stratégies basées sur l'utilisation de la nouvelle génération de molécules (PROTAC).

Mots clés : Apoptose, tumoroïdes, Mcl-1, biomarqueurs



47) Rôle du long ARN non codant H19 dans l'émergence et le développement des métastases dans le cancer du sein.

Evodie PEPPERSTRAETE, Ludivine RABY, Pamela VOLKEL, Pierre-Olivier ANGRAND, Marie WINTER, Chann LAGADEC, Samuel MEIGNAN, Roland BOURETTE, Xuefen LE BOURHIS, Eric ADRIAENSSENS

University Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Centre Oscar Lambret, UMR 9020-UMR 1277-Canther-Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

Le cancer du sein est un problème de santé publique. Malgré les progrès réalisés en termes de dépistage et de traitement, le taux de mortalité reste stable depuis 15 ans. La mortalité découle de la survenue de métastases.

Le long ARN non codant *H19* (lncARN), précurseur du miR-675, est impliqué dans la tumorigenèse mammaire. L'objectif de ce travail est de déterminer l'implication mais aussi la contribution relative d'*H19* et du miR-675 dans l'augmentation du potentiel métastatique du cancer du sein.

Nous avons montré que le lncARN *H19* et le miR-675 augmentent les capacités invasives des cellules cancéreuses du sein dans les modèles de poisson-zèbre transgénique xéno greffés. *In vitro*, *H19* semble induire la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), avec une expression diminuée des marqueurs épithéliaux et une expression accrue des marqueurs mésenchymateux. De façon intéressante, le miR-675 augmente simultanément l'expression des marqueurs épithéliaux et mésenchymateux, suggérant l'induction d'un phénotype hybride ou d'une transition mésenchymo-épithéliale (MET). Enfin nous avons démontré pour la première fois que le miR-675, comme son précurseur *H19*, augmentent les propriétés souches des cellules cancéreuses du sein.

Dans l'ensemble, nos données suggèrent que *H19* et miR-675 pourraient améliorer l'agressivité des cellules cancéreuses mammaires grâce à des mécanismes communs et différents.

Mots clés : lncARN, H19, Cancer du sein, miR-675, Métastases

NOTES



Poster

51) Connexion des désordres métaboliques à l'émergence tumorale : régulation de l'acide gras synthase par O-GlcNAcylation et mTOR au cours de la prolifération cellulaire hépatique.

Sadia RAAB¹, Alexis GADAULT², Ninon VERY¹, Amélie DECOURCELLE³, Céline SCHULZ¹, Julien THEVENET⁴, Stéphane HARDIVILLE¹, Quentin LEMAIRE¹, Marlène MORTUAIRE¹, Vanessa DEHENNAUT³, Ikram EL YAZIDI-BELKOURA¹, Anne-Sophie VERCOUTTER¹, Ganna PANASYUK², Tony LEFEBVRE¹

¹UGSF-Lille

²Institut Necker-Enfants Malades (INEM), 75014, Paris, France

³Univ. Lille, CNRS, Institut Pasteur, Lille

⁴Univ. Lille, INSERM, CHU, Lille

Une des caractéristiques du cancer est la reprogrammation du métabolisme. En ce sens, l'acide gras synthase ou Fatty Acid Synthase (FAS), enzyme responsable de la biosynthèse des acides gras, est plus active dans les cellules cancéreuses. Plus récemment, il a été montré qu'au travers de l'augmentation du flux de la voie de biosynthèse des hexosamines dont le produit final est l'UDP-GlcNAc, les cellules cancéreuses élèvent leurs niveaux de O-GlcNAcylation. La O-GlcNAcylation est une modification réversible des protéines nucléocytoplasmiques et mitochondriales. Elle est régulée par deux enzymes antagonistes : l'OGT (O-GlcNAc transférase), qui transfère le résidu GlcNAc à partir de l'UDP-GlcNAc sur le groupement hydroxyle d'une sérine ou d'une thréonine des protéines cibles, et l'OGA (O-GlcNAcase) qui l'hydrolyse. La synthèse d'UDP-GlcNAc fait intervenir différents précurseurs métaboliques tels que le glucose, la glutamine, l'acétyl-CoA et l'UTP. Par conséquent, l'UDP-GlcNAc est un véritable senseur métabolique au carrefour de plusieurs voies métaboliques: glucidique, lipidique, protéique et nucléotidique. De ce fait, un déséquilibre nutritionnel se traduit par des anomalies de O-GlcNAcylation des protéines, certaines associées aux maladies neurodégénératives, aux désordres cardiovasculaires, au diabète de type 2 ou au cancer.

Les travaux de mon équipe d'accueil sur la lipogenèse hépatique ont montré que la FAS est O-GlcNAcylée de manière nutrition dépendante. La O-GlcNAcylation de la FAS résulte en une réduction de sa dégradation protéasomale et par conséquent en une augmentation de son expression et de son activité. La FAS et l'OGT, sont toutes deux plus exprimées dans les tissus tumoraux en comparaison aux tissus sains et semblent être impliquées de manière active dans le mécanisme de tumorigenèse. Certains cancers dont le cancer colorectal et le cancer hépatique sont intimement dépendants des conditions nutritionnelles, un déséquilibre alimentaire ou une pathologie métabolique favorisant leur incidence.

L'objectif de ma thèse est de mieux comprendre le lien entre O-GlcNAcylation, mTOR et expression de la FAS au cours de la prolifération cellulaire et de relier ces éléments à l'émergence du cancer hépatique. Nous proposons que la suractivation de l'axe mTOR/OGT/FAS dans un contexte de dérégulation nutritionnelle soit un facteur lié à la cancérisation.

Grâce à des approches alliant culture cellulaire, biochimie des protéines, microscopie par fluorescence, PLA et RT-qPCR, nous avons montré que la FAS et l'OGT co-localisent majoritairement au niveau du cytoplasme et sont des partenaires d'interaction. Nous montrons aussi que l'expression de la FAS corrèle avec l'activation de la voie PI3K/AKT/mTOR dans les cellules cancéreuses hépatiques, dans les foies de souris obèses et dans un modèle d'activation chronique de la voie de signalisation mTOR (souris PTEN KO). Cette expression est également dépendante de la concentration en glucose. La FAS est exprimée de manière différentielle au cours de la prolifération cellulaire en réponse au sérum et cette expression est dépendante de l'activité catalytique de l'OGT.

Mots clés : Prolifération cellulaire, cancer hépatique, FASN, OGT, O-GlcNAcylation, voie mTOR



Ludivine RABY, Pamela VÖLKE, Xuefen LE BOURHIS, Pierre-Olivier ANGRAND

Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

Les mécanismes épigénétiques participent à la régulation transcriptionnelle par le biais de modifications de l'environnement chromatinien. Ces modifications sont majoritairement réalisées par des méthylations de l'ADN et des modifications post-traductionnelles des histones. Parmi les régulateurs épigénétiques agissant au niveau des histones, le complexe PRC2 (Polycomb repressive complex 2) triméthyle la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27me3). Le dépôt de cette marque épigénétique permet la compaction de la chromatine et la répression de nombreux gènes impliqués dans la prolifération ou la différenciation cellulaire. L'activité histone-méthyltransférase du complexe PRC2 est assurée par EZH2 ou EZH1. Cette activité enzymatique est soutenue par des protéines indispensables à la stabilité du complexe telles que SUZ12 et EED. Plusieurs mutations du gène EED, qui affectent la stabilité de la protéine ou son interaction avec le PRC2, ont été identifiées dans des tumeurs de la gaine des nerfs périphériques ou dans des syndromes myélodysplasiques. Afin de comprendre le rôle de la protéine EED et de la marque épigénétique H3K27me3, une lignée de poissons zèbres mutants pour le gène eed a été générée par la technologie des TALEN.

Les poissons eed+/- sont viables et fertiles. En revanche, l'homozygotie eed-/- est létale au stade larvaire, avec une survie médiane autour de 11 jpf (jours post-fécondation). Une étude histologique a révélé que la mort précoce des larves eed-/- résulte de sévères altérations des organes du système digestif. Des analyses par Western blots réalisées à 9 jpf ont montré une réduction drastique de la di- et triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3 chez les mutants. Le dépôt d'autres marques épigénétiques est également perturbé par la mutation de eed. Par hybridation in situ, une altération de la différenciation des précurseurs neuronaux et la surexpression de marqueurs de cellules souches ont été mises en évidence. Dans les cas de gliomes pédiatriques de haut grade K27M mutants, la diminution de la marque H3K27me3 est associée à la perte de la différenciation des cellules neurales et à la tumorigénèse. De nombreux marqueurs de cellules souches neurales sont surexprimés par ces cellules tumorales. Nos résultats préliminaires suggèrent donc que notre lignée mutante pourrait être un modèle d'étude de cette pathologie. Enfin nous avons observé que plus de 20% des poissons eed+/- développent des tumeurs abdominales après 1 an. La mutation de eed augmente ainsi la prévalence du développement tumoral. Notre modèle permettrait d'étudier l'implication de EED dans la tumorigénèse.

Mots clés : Epigénétique, Poisson zèbre, Répression Polycomb, PRC2, EED

NOTES



55) Utilisation d'organoïdes dérivés de tumeurs pour la prédiction de la réponse des cancers ovariens aux inhibiteurs de PARP.

Lucie THOREL^{1,2}, Pierre-Marie MORICE^{1,2}, Lucie LECOUFLET^{1,2,3}, Guillaume DESMARTIN^{1,2,3}, Romane FLORENT^{1,2,3}, Florence GIFFARD^{1,2}, Edwige ABEILARD^{1,2}, Emilie BROTTIN^{1,2,4}, Christophe DENOYELLE^{1,2,4}, Nicolas ELIE⁵, Mélanie BRIAND^{1,2,6}, Jean-François LEBRUN⁷, Sandrine MARTIN⁷, Enora DOLIVET⁷, Cécile BLANC-FOURNIER⁸, Florence JOLY⁹, Dominique VAUR^{2,10,11}, Martin FIGEAC¹², Matthieu MERYET-FIGUIERE^{1,2}, Louis-Bastien WEISWALD^{1,2,3}, Laurent POULAIN^{1,2,3,6}

¹ Normandie Univ, UNICAEN, Inserm U1086 ANTICIPE, 'Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la Prévention et le Traitement des Cancers', Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 3 avenue du Général Harris - Caen

² UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse

³ Normandie Univ, UNICAEN, Inserm U1086 ANTICIPE, Plateforme ORGAPRED - Caen

⁴ Plateforme Impedancell, Sf 4206 Icore, Université De Caen - Caen

⁵ Centre De Microscopie Appliquée À La Biologie, Sf 4206 Icore, Université De Caen - Caen

⁶ Centre de Ressources Biologiques 'OvaRessources' - NF 596900, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse

⁷ Département De Chirurgie, Centre De Lutte Contre Le Cancer F. Baclesse

⁸ Département De Biopathologie, Centre De Lutte Contre Le Cancer F. Baclesse

⁹ Département De Recherche Clinique, Centre De Lutte Contre Le Cancer F. Baclesse

¹⁰ Département de Biopathologie, Laboratoire de Biologie et Génétique du Cancer, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse

¹¹ Normandie Univ, UNIROUEN, Inserm U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée - Rouen

¹² Université de Lille, Plateau de génomique fonctionnelle et structurale, CHU Lille - Lille

Les cancers ovariens sont la première cause de mortalité par cancers gynécologiques. Toutes histologies confondues seulement 48% des patientes survivent 5 ans après le diagnostic. Ce sombre pronostic est en grande partie dû à la forte proportion de rechute qui s'élève à 75% des patientes qui étaient initialement sensibles aux platines. C'est dans ce contexte qu'une thérapie ciblée novatrice, les inhibiteurs de PARP (PARPi), a émergé et a rapidement amélioré la prise en charge thérapeutique des patientes éligibles.

La stratégie des PARPi consiste à exploiter les mécanismes déficients de réparation des cassures double-brin par la voie de réparation par recombinaison homologue (HR) afin de provoquer une létalité synthétique. Actuellement la prescription des PARPi en 1ère ligne d'entretien concerne uniquement les patientes répondeuses au platine et présentant des mutations dans un panel de gènes liés à la HR (incluant *BRCA*). Néanmoins il a pu être montré que des patientes a priori sans statut de recombinaison homologue déficient (HRD) bénéficieraient quand même des PARPi, faisant évoluer la prescription de certains PARPi en 2nde ligne d'entretien indépendamment du statut HR de la patiente. Ce constat a mis en avant le besoin de nouveaux moyens de sélection des patientes pour leur accès aux thérapies novatrices dès les premières lignes, s'ajoutant à la nécessité d'identifier précocement les patientes répondeuses ou réfractaires à la chimiothérapie.

C'est en réponse à ces besoins que les organoïdes tumoraux (tumoroides) pourraient constituer des outils particulièrement pertinents. Ces tumoroides dérivent de tumeurs de patients et vont reformer en 3D des micro tumeurs proches de la tumeur initiale en termes de caractéristiques histologiques et moléculaires. Ils représentent ainsi des modèles pouvant être cultivés et utilisés pour des tests fonctionnels à visée prédictive ou de recherche.

La production et la culture de tumoroides ovariens a été récemment mise en place au laboratoire et a permis l'établissement d'une trentaine de modèles dérivés de tumeurs ovariennes d'histologies variées. Après établissement, ces modèles ont pu être exposés au carboplatine et à différents PARPi afin d'évaluer leur sensibilité. Les données de sensibilité au carboplatine ont ensuite été comparées aux réponses cliniques des patientes et ont pu apporter les premières preuves de concept de l'intérêt prédictif de ces tumoroides.

Nous nous intéressons à présent particulièrement à l'intérêt de ces tumoroides dans le contexte de l'utilisation des PARPi, en vue de permettre une sélection plus pertinente des patientes éligibles à cette stratégie thérapeutique. Cette sélection est d'autant plus importante que ces molécules peuvent présenter des toxicités parfois sévères et sont particulièrement coûteuses. A ce jour, les essais cliniques montrent que des patientes identifiées comme HDR ne semblent pas répondre aux PARPi, tandis que des patientes identifiées comme HRP par les tests génétiques répondent à ces molécules. Les tests fonctionnels proposés ici pourraient ainsi améliorer l'identification des patientes répondeuses aux PARPi.

Ces tests fonctionnels ont donc pour objectif d'identifier les tumeurs qui présentent un statut HRD. Pour cela nous réalisons d'une part un test d'évaluation directe de la réponse des tumoroides aux traitements, et d'autre part un test qui évalue directement et de manière globale la capacité des cellules à mettre en place des mécanismes de réparation par HR: le test RECAP (REpair CAPacity). Ce dernier évalue la capacité des cellules à organiser des foyers de réparation, en détectant la protéine RAD51. Nous avons mis en place à cet effet une procédure automatisée de quantification des foyers de RAD51 classant ainsi les tumoroides comme HDR, HRP ou de statut intermédiaire.

Les résultats du test RECAP réalisés sur les différentes lignées de tumoroides seront comparés à leur réponse aux traitements afin de lier leur statut HR et leur sensibilité aux PARPi.

En parallèle de ce travail, d'autres approches exploratoires sont en cours de mise en œuvre afin de raccourcir les délais entre le prélèvement de la tumeur et l'obtention de la réponse aux tests fonctionnels, ou encore de permettre le test simultané de plusieurs PARPi. Enfin, nous espérons à terme réaliser des études de corrélation avec la réponse clinique lorsque que d'avantage de patientes bénéficiant de ces molécules seront incluses dans notre cohorte.

Mots clés : Cancers de l'ovaire, organoïdes dérivés de tumeur, outil prédictif, inhibiteurs de PARP, test RECAP, automatisation, miniaturisation



Poster

56) Impact des exosomes tumoraux de carcinome du nasopharynx sur l'induction de cellules dendritiques tolérantes humaines : Evaluation du rôle de la Galectine-9.

Camille TRIOËN, Anthony LEFEBVRE, Bertrand LEROUX, Guillaume GROLEZ, Nadira DELHEM, Olivier MORALES

INSERM U1189 OncoThAI - Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, Institut de Biologie de Lille, France

Introduction : Le Carcinome du nasopharynx (CNP) est un cancer épithélial affectant les voies aérodigestives supérieures. Il s'agit d'une pathologie qui possède une étiologie multifactorielle impliquant notamment un facteur viral ; le virus Epstein Barr (EBV) dont l'expression des protéines et ARN est associée dans 100% des cas de CNP. Il a été décrit dans ce cancer la présence d'un microenvironnement immunosuppresseur porté notamment par les lymphocytes T régulateurs (Tregs) et par les exosomes tumoraux (Exo-CNP). En effet les cellules tumorales de CNP produisent des quantités importantes d'exosomes convoyant diverses protéines immunosuppressives telle que la Galectine-9. Ces derniers jouent ainsi un rôle primordial dans l'échappement immunitaire du CNP notamment en augmentant l'activité suppressive et le recrutement des lymphocytes T régulateurs (Treg) et en induisant un blocage de la maturation des cellules dendritiques (DC) en faveur d'un phénotype tolérante (tDC) inducteur de Tregs.

Objectifs : Dans ce contexte, l'objectif de cette étude consistait à définir les mécanismes moléculaires impliqués dans l'induction de tDC par les Exo tumoraux de CNP en évaluant plus spécifiquement le rôle de la Gal-9 recombinante libre et de la Gal-9 exosomale. Nous avons dans un premier temps analysé leur impact direct sur la différenciation et la maturation des DC. Puis dans un deuxième temps, nous avons évalué l'effet d'un anticorps monoclonal ciblant spécifiquement la Galectine 9 (1G3) sur la capacité des exosomes tumoraux de CNP à induire des tDC.

Méthodes : Pour répondre à cette problématique, nous avons dans un premier temps isolé des exosomes tumoraux, issus d'un CNP humain xénotransplanté dans des souris NUDE, par ultracentrifugations et purification sur coussin de sucrose. Ces exosomes ont, par la suite, été caractérisés au niveau phénotypique et fonctionnel (Western Blot et test de suppression). Et enfin, des cellules dendritiques ont été générées à partir de monocytes humains (Ficoll, Tri magnétique) en présence ou non d'exosomes tumoraux, ou de Gal-9 recombinante. L'état de maturation des DC ainsi générées a été validé au niveau phénotypique par (i) analyse en cytométrie en flux des marqueurs membranaires spécifiques de l'état de maturation, (ii) analyse du sécrétome cytokinique par ELISA et par (iii) analyse par RT-QPCR des transcrits de plusieurs gènes associés aux DC. L'état de maturation des DC a également été validé au niveau fonctionnel à l'aide d'un test de suppression [co-culture des DC avec des LTCD3+ totaux (tri magnétique)]. Enfin, nous avons testé l'effet du blocage de la Gal-9 recombinante et exosomale sur la différenciation et la maturation des DC par l'utilisation d'un anti-Gal-9 (anticorps 1G3 breveté par le laboratoire).

Résultats : Nous avons pu montrer que les exosomes tumoraux de CNP induisent une altération de la maturation des DC en faveur d'un phénotype semi-mature de type tolérante. Cependant, à ce stade de l'étude, il semblerait que la Galectine 9 recombinante n'affecte pas la maturation des DC favorisant ainsi l'émergence d'un phénotype mature. Néanmoins, de façon très intéressante, les DC générées en présence de la Gal-9 possèdent des propriétés immunosuppressives (diminution de la prolifération et de la viabilité des PBMC) qui semblent être inhibées par le 1G3.

Conclusion : En conclusion, l'ensemble de ces résultats préliminaires suggère que la Gal9 libre n'induit pas de blocage de la maturation des DC contrairement aux Exo-CNP. Néanmoins, il semblerait que ces DC-Gal-9 puissent jouer un rôle dans l'établissement d'un microenvironnement immunosuppresseur et qu'une potentielle immunothérapie ciblant la Gal-9 pourrait contribuer à la levée de cette immunosuppression.

Mots clés : Carcinome du nasopharynx, Exosomes, Cellule dendritique, Galectine-9



Sarah TROUVILLIEZ¹, Julien CICERO¹, Romain MAGNEZ², Pamela VOLKEL¹, Xavier THURU², Pierre-Olivier ANGRAND¹, Robert-Alain TOILLON¹, Jérôme DE RUYCK³

¹ Canther - UMR9020 CNRS - UMR1277 Inserm

² Canther - UMR9020 CNRS - UMRS1277

³ Université de Lille - UMR 8576

Les facteurs de croissance et leurs récepteurs sont des acteurs clés du développement tumoral. Les travaux du laboratoire ont en particulier montré que le Nerve Growth Factor (NGF) et son récepteur de haute affinité TrkA sont impliqués dans le développement tumoral et la métastase des cancers du sein. Plus récemment, nous avons montré que le NGF induit la formation du complexe TrkA/CD44 dans les cellules cancéreuses de sein qui contribuerait au processus métastatique. Ce complexe active une signalisation alternative non dépendante de la phosphorylation de TrkA via le recrutement d'une signalisation impliquant les protéines $G\alpha_{12/13}$, Rho-GEFs, Rhos et ROCKs. Dans ce travail, nous avons cherché à décrire les déterminants moléculaires de l'interaction TrkA/CD44 et plus particulièrement dans un sous type de cancer du sein agressif : les triples négatifs. Par modélisation informatique, nous avons observé que TrkA et CD44 pourraient être associés au niveau de leur domaine extracellulaire. Pour vérifier cette modélisation, j'ai donc synthétisé un peptide mimétique sur la base de la séquence identifiée sur CD44. Et dans un premier temps, j'ai ainsi pu confirmer que ce peptide empêchait la liaison TrkA/CD44 par une technique de ligation de proximité (ou duolink) puis j'ai confirmé que les acides aminés identifiés et repris dans ce peptide liaient TrkA par une technique de thermophorèse (collaboration avec le Dr. Xavier Thuru). Nous avons également par l'utilisation de ce peptide pu démontrer que l'inhibition de la formation du complexe TrkA/CD44 est bien à l'origine de la perte d'activation de RhoA et de l'inhibition de la migration invasion des cellules cancéreuses de sein. De plus, j'ai pu montrer que ce peptide mimétique est également actif in vivo. En effet, il permet de diminuer la métastase des cellules cancéreuses de sein MDA-MB-231 dans les souris SCID xénotreffées. Mes travaux de thèse sont tout à fait originaux et montrent pour la première fois l'existence d'une interaction directe entre TrkA et CD44. Cette interaction est impliquée dans le processus métastatique et son ciblage pourrait constituer une nouvelle cible thérapeutique.

Mots clés : Cancers du sein, Métastases, Thérapie ciblée

NOTES



58) Fascin-1, gène directement réprimé par le récepteur aux androgènes, est associé aux cancers de la prostate neuroendocrines.

Anthony TURPIN ^{1,2}, Pauline PARENT ^{1,2}, Hortense CHEVALIER ^{1,2}, Carine DELLIAUX ^{1,2}, Nathalie VANPOUILLE ^{1,2}, Anne-Claire FLOURENS ^{1,2}, Xavier LEROY ^{1,2,3}, Tristan LANEL ^{1,2,3}, Arnaud VILLERS ^{1,2,4}, Jonathan OLIVIER ^{1,2,4}, Franck BONARDI ⁵, Hélène TOUZET ⁶, Yvan DE LAUNOIT ^{1,2}, Tian V TIAN ^{1,7}, Martine DUTERQUE-COQUILLAUD ^{1,2}

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Institut Pasteur de Lille, F-59000 Lille, France

³ Institut de Pathologie, CHU Lille, Avenue Oscar Lambret, F-59000 Lille, France

⁴ Department of Urology, Hospital Claude Huriez, CHRU Lille, France; Université de Lille Faculté de médecine Henri Warembourg, Lille, France

⁵ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41 - UMS 2014 - PLBS, bilille, F-59000 Lille, France

⁶ Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, UMR 9189 CRISTAL, F-59000 Lille, France

⁷ Vall d'Hebron Institute of Oncology (VHIO), Barcelona, Spain.

Introduction : Le cancer de la prostate neuroendocrine (NEPC) est une forme agressive de cancer de la prostate, pouvant survenir en situation de résistance aux thérapies anti-androgéniques. Cependant, les mécanismes moléculaires associés sont encore mal compris. Notre étude porte sur le gène *Fascin-1* (*FSCN1*), impliqué dans la formation des filaments d'actine nécessaires à la formation des invadopodes jouant un rôle dans l'invasion tumorale de plusieurs cancers mais très peu étudié dans le cancer de la prostate.

Résultats : En utilisant des lignées de cellules prostatiques hormono-dépendantes, nous avons montré que le récepteur aux androgènes (AR) régule à la baisse l'expression du gène *FSCN1* et agit comme un répresseur transcriptionnel. De plus, les antagonistes de AR, ainsi que la culture des cellules en situation de privation hormonale, permettent une réexpression du gène *FSCN1* et des principaux gènes neuroendocrines tels que *Chromogranine A*, *NSE* ou *Synaptophysine*. Ces résultats *in vitro* sont validés chez l'homme par la détection exclusive de *FSCN1*, obtenue par immunohistochimie, dans les échantillons humains de NEPC et l'absence de détection dans les tumeurs primaires. En complément, par l'analyse de ChIP-seq publiés et des expériences de ChIP (Chromatine Immunoprecipitation), nous avons montré que AR se fixe directement sur les régions régulatrices de *FSCN1* pour réprimer son expression. En outre, l'inhibition de l'expression de *FSCN1*, par ARN-interférence, entrave le comportement cellulaire agressif et invasif évalué par migration et invasion *in vitro*.

Conclusion : Nos résultats identifient *FSCN1* comme un nouveau médiateur de l'agressivité des NEPC et comme un marqueur d'invasion tumorale. *FSCN1* pourrait jouer un rôle dans les mécanismes de résistances aux hormonothérapies dans le cancer de la prostate et constituer à l'avenir une cible thérapeutique.

Mots clés : *Fascin 1, cancer de la prostate neuroendocrine, récepteur aux androgènes, métastases*

NOTES



5) Rôle de la protéine CCL2 dans l'atrophie thymique dans un modèle murin de leucémie aiguë myéloïde.

Meriem BEN KHOUD, Bruno QUESNEL, Carine BRINSTER

CANTHER - «Hétérogénéité, Plasticité et Résistance des Cancers aux Thérapies», UMR 9020 CNRS 1277 INSERM

Les leucémies aiguës myéloïde (LAM) sont des hématopathies malignes qui touchent 3 personnes sur 100 000 en France par an et dont l'âge moyen de diagnostic est supérieur à 60 ans. La LAM se caractérise par un arrêt de la différenciation et une prolifération accrue des progéniteurs ou des précurseurs hématopoïétiques (blastes) des différentes lignées myéloïdes. Ces blastes s'accumulent dans la moelle osseuse et le sang des patients. Actuellement, le traitement des LAM se résume en l'utilisation de molécules de chimiothérapies (cytarabine et anthracyclines) ou de greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH).

Les études récentes effectuées chez les patients atteints de LAM ont révélé une immunodéficience quantitative des lymphocytes T, caractérisée par un nombre réduit de cellules T émigrant du thymus et un répertoire T restreint. En l'absence de prélèvements thymiques disponibles chez les patients, nous avons mis en place un modèle expérimental de souris développant une LAM. Ce modèle a permis de mettre en évidence une atrophie thymique au cours du développement de la LAM avec des caractéristiques voisines de celles décrites chez les patients. Nous avons pu mettre en évidence le rôle de la protéine CCL2 dans l'atrophie thymique ainsi que la mort de certaines populations de thymocytes lors de la LAM. Bien que les propriétés chimiotactiques de CCL2 soient bien connues, de nouvelles fonctions lui ont récemment été attribuées dont celle d'induire l'apoptose. Au cours de ce projet, nous avons tenté d'identifier le rôle de CCL2 dans la mort des thymocytes ainsi que les voies de signalisation impliquées.

Des thymi de souris contrôles, de souris leucémiques et de souris leucémiques injectées avec un anticorps neutralisant CCL2 ont été utilisés pour étudier la mort (apoptose, nécrose, nécroptose...) des différentes populations thymiques. Nous nous sommes également intéressés à l'expression des récepteurs de CCL2 (CCR2, CCR4, CCR5), des récepteurs et protéines impliqués dans les morts cellulaires (FAS, TRAIL, TNF-R1, MLKL, RIPK1, RIPK3) et de la protéine MCL1. Cette protéine est induite par la signalisation CCL2/CCR2 et connue pour ses activités de RNase, désubiquitineuse ainsi que pour son rôle de facteur de transcription.

Chez les souris leucémiques, nous avons constaté une mort significative de la population de thymocytes double positifs (CD4+CD8+). Cette mort s'est avérée être indépendante de l'apoptose généralement observée dans le thymus. Une augmentation d'expression de *Mkl1* dans les thymi et de *Ccr2* sur les populations de thymocytes a également été mise en évidence chez les souris atteintes de LAM par rapport aux souris contrôles. Les expériences permettront prochainement de déterminer si la signalisation de CCL2 via son récepteur CCR2 favorise l'expression de Mkl1 et la mort par nécroptose.

Mots clés : Leucémie aiguë myéloïde, Mort cellulaire, Apoptose, Nécroptose, CCL2, CCR2, MLKL

NOTES



9) FiLT3r : un nouvel algorithme pour la détection et la quantification des mutations FLT3-ITD par séquençage haut débit.

Augustin BOUDRY¹, Nicolas DUPLOYEZ¹, Martin FIGEAC², Sandrine GEOFFROY¹, Maxime BUCCI¹, Karine-Celine LEBAS³, Matthieu DUCHMANN⁴, Romane JOUDINAUD¹, Laurène FENWARTH¹, Olivier NIBOUREL¹, Sasha DARMON⁵, Laure GOURSAUD⁶, Raphael ITZYKSON³, Hervé DOMBRET³, Mathilde HUNAULT⁷, Claude PREUDHOMME¹, Mikael SALSON⁵

¹ Laboratoire d'hématologie, CHU de Lille, Lille, France

² Univ. Lille, plate-forme de génomique fonctionnelle et structurale Go@L-GFS, F-59000 Lille France

³ Hématologie, Hôpital Saint Louis, Paris

⁴ Inserm/cnrs umr 944/7212, institut de recherche de saint louis, Paris Diderot University, Paris, France

⁵ Cnrs, cristal, inria lille, Université Lille, Lille, France

⁶ Maladies du sang, CHU Lille, Lille

⁷ Hématologie, CHU Angers, Angers, France

Introduction : Les duplications en tandem du gène *FLT3* (*FLT3*-ITD) sont retrouvées dans 20 à 30 % des cas de leucémie aiguë myéloïde (LAM). La mutation *FLT3*-ITD constitue un marqueur pronostique et une cible thérapeutique. Elle est systématiquement recherchée et quantifiée par analyse de fragments en pratique courante, conformément aux recommandations de l'European LeukemiaNet. Cette méthode permet d'estimer le ratio allèle muté/allèle sauvage. Le séquençage haut débit (NGS) permet une détection simultanée de mutations d'un panel plus ou moins large de gènes avec une sensibilité élevée. Les mutations *FLT3*-ITD sont hétérogènes en termes de taille et de site d'insertion, rendant leur détection en NGS difficile à mettre en évidence avec les outils bio-informatiques habituels. Plusieurs algorithmes ont été créés pour identifier ces mutations (GetITD, km, ScanITD...), mais la plupart d'entre eux ne parviennent pas à détecter et annoter toutes les ITD.

L'objectif de ce travail était d'évaluer la performance d'un nouvel algorithme de détection des mutations *FLT3*-ITD, FiLT3r, en comparaison à l'analyse de fragments, méthode de référence, et aux autres algorithmes bio-informatiques existants.

Matériels et méthodes : Il s'agissait d'une étude rétrospective incluant 185 patients âgés de 18 à 60 ans diagnostiqués pour une LAM et issus du protocole BIG1 (NCT02416388). L'analyse NGS a été réalisée à partir d'une librairie constituée par capture ciblant 81 gènes (SSQXT Agilent®). Le séquençage des gènes était réalisé avec la technologie Illumina® (couverture moyenne de 2000X). Les différents algorithmes bio-informatiques ont été testés sur les échantillons analysés en NGS, et comparés à l'analyse de fragments.

Résultats : La recherche de mutation *FLT3*-ITD par analyse de fragments a identifié 147 ITD chez 114 patients (61.6%) avec une taille médiane de 42 nucléotides (range : -3 - 213) et un ratio médian de 0,14 (range : 0,01 - 2,87). Toutes les ITD détectées par l'analyse de fragments chez ces 114 patients ont été confirmées par FiLT3r, y compris chez les patients présentant plusieurs ITDs. Les ratios calculés avec cet algorithme ont montré une corrélation avec la méthode de référence estimée à 0,92, correspondant au coefficient de corrélation le plus élevé de tous les algorithmes testés (range : 0,42 - 0,92). Parmi les patients considérés comme négatifs en analyse de fragments, FiLT3r a détecté 5 ITD, mais celles-ci se trouvaient à des ratios inférieurs au seuil de quantification de la méthode de référence. En effet, sur des dilutions in silico FiLT3r détecte les ITD jusqu'à un ratio de 10^{-4} , tandis que la limite de détection pour la méthode de référence est de 1%. FiLT3r a identifié les mutations *FLT3*-ITD avec une sensibilité de 1. Aucun faux positif au-dessus d'un seuil de 1% n'a été retrouvé avec FiLT3r.

Conclusion : L'algorithme FiLT3r représente une approche prometteuse pour la détection rapide, précise et robuste des mutations *FLT3*-ITD par NGS. Ces premiers résultats nécessitent néanmoins d'être confirmés sur une plus large cohorte avant d'intégrer cet algorithme dans la pratique quotidienne.

Mots clés : Leucémie aiguë myéloïde, *FLT3*-ITD, NGS, algorithme



11) Greffe sur membrane chorio-allantoïdienne d'embryon de poule comme nouveau modèle d'étude in vivo du lymphome classique de Hodgkin (cHL).

Mélody CAILLOT¹, Simon SAULE^{2,3}, Fabrice JARDIN^{4,5}, Brigitte SOLA¹

¹ INSERM, UNICAEN, Normandie Univ, F-14000 Caen, France

² Institut Curie, Université PSL, CNRS UMR3347, INSERM U1021, Orsay, France

³ Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Orsay, France

⁴ Normandie Univ, INSERM, Unirouen, Rouen, France

⁵ Service d'Hématologie, Centre de lutte contre le Cancer Henri Becquerel, Rouen, France

Le lymphome classique de Hodgkin (cHL) est un cancer hématologique rare issu des lymphocytes B matures. Il est caractérisé par la prolifération tumorale de lymphocytes B dans un ou plusieurs organes lymphoïdes comme les ganglions lymphatiques et parfois dans des sites extra-ganglionnaires. La présence des cellules malignes dites Hodgkin Reed-Sternberg (HRS), géantes, multinucléées permet de confirmer le diagnostic. Le microenvironnement tumoral prend une part importante dans le développement de la pathologie. Le traitement de base du cHL est une chimiothérapie et/ou radiothérapie et une greffe autologue pour les patients éligibles. Le lymphome de Hodgkin est un cancer de bon pronostic puisque pour 84 % des cHL, le taux de survie relatif sera d'environ 5 ans (1).

Des premiers résultats obtenus in vitro montraient une plus grande sensibilité des cellules de cHL à deux drogues : le selinexor, un inhibiteur de l'export nucléo-cytoplasmique et l'ibrutinib, un inhibiteur de la voie de signalisation NFκB, en présence d'une mutation dans la protéine exportine 1 (XPO1E571K).

Afin de vérifier les résultats obtenus in vitro, le modèle de greffe sur membrane chorio-allantoïdienne d'embryon de poule (CAM) adaptée des travaux de Saule et Komatsu a été utilisé (2,3). Trois lignées de cHL montrant des caractéristiques de croissance différentes ont été greffées sur la CAM à J9 du développement embryonnaire. Deux jours après la greffe, les tumeurs sont visibles et sont traitées soit par le solvant des drogues (0.1% DMSO), de l'ibrutinib ou du selinexor à des concentrations variables selon la sensibilité de la lignée, tous les deux jours. Au jour 16, 24 h après le dernier traitement, les tumeurs ont été prélevées et pesées. Elles ont été fixées au formol et incluses en paraffine pour des analyses immunohistochimiques.

Les tumeurs des 3 lignées traitées avec l'une ou l'autre des molécules seules ont une masse tumorale significativement différentes des tumeurs traitées par le DMSO (groupe contrôle) confirmant ainsi que les deux traitements ont un effet inhibiteur sur la croissance tumorale. De plus, par comparaison avec les cellules sensibles, des effets sur la croissance tumorale des cellules les plus résistantes sont observés en utilisant des concentrations de 10 à 50 fois plus importantes. Les effets observés in vitro sont parfaitement reproduits in ovo confirmant l'intérêt de ce modèle préclinique.

Les analyses immunohistochimiques qui permettront l'analyse de la prolifération (Ki67) et l'activation de la voie de l'apoptose (caspase clivée), sont en cours. A moyen terme, nous souhaitons caractériser le mécanisme moléculaire qui régule la sensibilité des cellules au selinexor et à l'ibrutinib.

Références :

1. Ansell SM. Hodgkin lymphoma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2018,93,704-715.

2. Maacha S, Saule S. Evaluation of tumor cell invasiveness in vivo: The chick chorioallantoic membrane assay. *Methods Mol Biol.* 2018,1749,71-77.

3. Komatsu A, Matsumoto K, Saito T, Muto M, Tamanoi F. Patient derived chicken egg tumor model (PDcE Model): Current status and critical issues. *Cells.* 2018,8,440.

Mots clés : Lymphome classique de Hodgkin (cHL), membrane chorio-allantoïdienne, in ovo, greffe



Poster

12) La surproduction de ROS sensibilise les cellules de myélome multiple à l'apoptose induite par le bortézomib et atténue la résistance induite par le microenvironnement des cellules tumorales.

Mélody CAILLOT¹, Florence ZYLBERSZTEJN¹, Elsa MAITRE^{1,2}, Jérôme BOURGEAIS³, Olivier HÉRAULT^{3,4}, Brigitte SOLA¹

¹ INSERM, UNICAEN, Normandie Univ, F-14000 Caen, France

² Laboratoire d'Hématologie, CHU Côte de Nacre, F-14000 Caen, France

³ Service d'Hématologie Biologique, CHRU de Tours, F-37000 Tours, France

⁴ LNox, CNRS, Université de Tours, F-37000 Tours, France

Le myélome multiple (MM) est une hémopathie maligne caractérisée par la prolifération et l'accumulation de plasmocytes malins dans la moelle osseuse. Malgré l'utilisation de nouveaux traitements, comme le bortézomib (BTZ), un inhibiteur du protéasome, la maladie reste incurable à cause de mécanismes de résistance innés ou acquis.

Du fait de leur localisation, les cellules de MM sont adaptées à un environnement hypoxique et à des niveaux intracellulaires importants d'espèces réactives de l'oxygène (ou ROS). Malgré cela, leur apoptose peut être induite par une augmentation des ROS par un traitement au BTZ, par exemple. Cette observation nous a permis de poser l'hypothèse que la surproduction de ROS pourrait resensibiliser les cellules résistantes au BTZ.

Deux drogues ont été utilisées pour induire les ROS dans un panel de lignées cellulaires de MM montrant des réponses variables au BTZ. Le VAS3947 (VAS) est un inhibiteur de la NADPH oxydase ou NOX2, responsable de la production de ROS dans le MM (1). L'auranofine (AUR) est un inhibiteur de la thioredoxine reductase (TXNRD1), une enzyme antioxydante surexprimée dans les cellules de MM de tous les sous-groupes moléculaires. Nous avons utilisé plusieurs systèmes de culture des lignées de MM : culture en suspension, culture sur sous-couche de fibronectine, ou sur sous-couche de cellules mésenchymateuses HS-5, et culture 3D (ou organoïdes). Ces derniers modèles miment les interactions des cellules de MM avec leur microenvironnement tumoral. La réponse de cellules primaires isolées de patients avec un MM a été étudiée sur des cultures en suspension et des organoïdes.

Plusieurs lignées cellulaires de MM sont sensibles au VAS mais associé au BTZ, il ne montre au mieux que des effets additifs. De même, les cellules de MM montrent des niveaux de réponse variables à l'AUR. En revanche, dans l'ensemble des systèmes de culture étudiés, le traitement combiné AUR/BTZ montre des effets synergiques sur les lignées y compris celles résistantes au BTZ. Les traitements à l'AUR passent par une surproduction de ROS et entraînent une mort cellulaire due à l'activation de l'apoptose et de l'autophagie.

En conclusion, la surproduction de ROS par l'utilisation combinée d'AUR et de BTZ permet d'induire l'apoptose dans les cellules de MM y compris celles qui sont résistantes au BTZ. La modulation de l'équilibre redox des cellules MM pourrait être une thérapie efficace pour les patients réfractaires ou en rechute post-BTZ.

Références :

1. Bustany et al. Cyclin D1 unbalances the redox status controlling cell adhesion, migration, and drug resistance in myeloma cells. *Oncotarget*. 2016, 7: 45214-45224.

2. Caillot et al. ROS overproduction sensitises myeloma cells to bortezomib-induced apoptosis and alleviates tumour microenvironment-mediated cell resistance. *Cells*. 2020, 9: E2357.

Mots clés : Espèces réactives de l'oxygène (ROS), myélome multiple, microenvironnement, bortézomib, auranofine



25) Mise en place de la bio-impression pour l'étude de l'influence du microenvironnement sur les modifications métaboliques liées à la résistance des cellules leucémiques aux inhibiteurs de tyrosine kinase.

Nicolas GERMAIN ^{1,2}, Mélanie DHAYER ¹, Salim DEKIOUK ¹, Marie BOILEAU ^{1,3}, Philippe MARCHETTI ^{1,2}

¹ Univ. Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² CHU Lille, Banque de Tissus, F-59000 Lille, France

³ CHU Lille, Service de Dermatologie, F-59000 Lille, France

Les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) ont révolutionné la prise en charge des leucémies myéloïdes chroniques et se développent pour les traitements des leucémies aiguës myéloïdes de type FLT3 ITD. Cependant, l'apparition de résistance est fréquente et conduit très souvent à des rechutes. Notre groupe ainsi que d'autres ont mis en évidence que la persistance des cellules leucémiques sous ITK est médiée par l'activation du métabolisme mitochondrial, correspondant à une adaptation métabolique au stress induit par le traitement. Les modifications métaboliques des cellules leucémiques dépendent de facteurs intracellulaires et également du microenvironnement. Le stroma joue un rôle primordial dans les modifications métaboliques associées à la persistance et à la résistance aux ITK, via les facteurs paracrines des cellules résidentes (adipocytes, fibroblastes) et via le transfert d'acides gras ou de mitochondries. Des résultats préliminaires obtenus au laboratoire ont montré que les cellules leucémiques BCR-ABL, DA1-3B, deviennent tolérantes à l'imatinib en présence de cellules pré-adipocytaires 3T3 L1 différenciées, et que cette résistance est proportionnelle au degré de différenciation adipocytaire, au nombre de cellules adipocytaires, mais aussi à la présence de surnageant adipocytaire. Ainsi, l'ensemble des résultats suggère que l'environnement cellulaire favorise le métabolisme mitochondrial lié à la résistance des cellules leucémiques aux TKI.

Par ailleurs, des facteurs mécaniques, tels que la rigidité stromale, sont connus pour induire des modifications de la prolifération cellulaire tumorale. Les cellules leucémiques rencontrent de grandes variations dans leur environnement mécanique : contraintes par la trame osseuse dans la moelle, à un environnement sanguin circulant où les cellules subissent un stress de cisaillement et des collisions répétées. Ces informations mécaniques ont un impact sur les protéines membranaires ou cytoplasmique, induisent leur modification structurale et leur déplacement vers le noyau, avec une voie de transduction bien caractérisée : YAP/TAZ. Il a été montré par Marsola et al., en 2017 que la surexpression de TAZ chez les patients atteints d'une LMC résistance à l'imatinib, et une corrélation entre l'expression de la voie YAP/TAZ et le score pronostic de Sokal. Cette relation entre forces mécaniques et métabolisme a d'ailleurs été très récemment montrée par Meng et al., en 2020 : le métabolisme mitochondrial des cellules lymphoïdes T est activé par les changements mécaniques via la voie YAP/TAZ. Des résultats préliminaires obtenus au laboratoire ont montré qu'une rigidité faible du support entraîne une tolérance à l'imatinib des cellules DA1-3B.

L'objectif est de déterminer le rôle de la rigidité du microenvironnement tumoral dans les modifications métaboliques associées à la persistance des cellules leucémiques aux ITK. Pour cela nous utilisons la bio-impression, une technique de fabrication additive, qui élargit grandement la capacité et la complexité des études in-vitro, par l'ajout précis et contrôlé de matrice extracellulaire, et également de cellules et biomatériaux. Ce projet qui constitue une nouvelle thématique au sein de notre équipe devra permettre de valider, probablement pour la première fois au sein du Cancéropôle, l'utilisation de la bio-impression pour l'étude des leucémies et surtout d'évaluer la place des paramètres physiques dans les modifications métaboliques associées à la persistance des cellules leucémiques myéloïdes aux ITK.

Mots clés : Leucémie, inhibiteurs de tyrosine kinase, résistance, bio-impression



Poster

31) Incidence, étiologie et impact pronostique des profils électrophorétiques atypiques, chez les patients atteints de pathologie myéloïde recevant une allo-greffe de Cellules Souches Hématopoïétique.

Kaies HEDHLI ¹, Valentin CLICHET ², Amandine CHARBONNIER ³, Sandrine CASTELAIN ⁴, Antoine GALMICHE ^{1,5}, Jean Pierre MAROLLEAU ³, Thomas BOYER ^{2,6}, Alexis CAULIER ^{3,6}, Chloé SAUZAY ^{1,5}

¹ CHU Amiens-Picardie, Laboratoire de Biochimie, Amiens

² CHU Amiens-Picardie, Laboratoire d'Hématologie, Amiens

³ CHU Amiens-Picardie, Service d'Hématologie Clinique et de Thérapie Cellulaire, Amiens

⁴ CHU Amiens-Picardie, Laboratoire de Virologie, Amiens

⁵ Equipe CHIMERE, EA 7516, Université de Picardie Jules Verne, Amiens

⁶ Equipe HEMATIM, EA 4666, Université de Picardie Jules Verne, Amiens

Contexte : Des profils d'électrophorèse des protéines sériques (EPS) « atypiques » apparaissent fréquemment chez les patients ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (allo-HSCT). L'origine et la signification clinique de ces profils atypiques restent à éclaircir. Ils combinent des composants monoclonaux et oligoclonaux, observés à l'EPS et confirmés par immunofixation.

Objectifs : L'objectif de l'étude est d'analyser l'incidence, l'étiologie et le rôle pronostique des profils d'EPS atypiques, chez des patients ayant reçu une allo-HSCT.

Conception de l'étude : Cette étude rétrospective a inclus 117 patients atteints d'une hémopathie myéloïde et ayant reçu une allo-HSCT entre 2012 et 2018 au CHU d'Amiens. Nous avons exclu les patients atteints d'hémopathies lymphoïdes, les patients atteints de myélome multiple, les patients présentant une EPS atypique avant la transplantation et les patients décédés dans les 100 jours suivant la transplantation.

Résultats : Une EPS atypique est survenue chez 42,7 % des patients. L'incidence cumulative des profils atypiques était significativement plus élevée chez les patients présentant une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD, $p=0,019$) et chez les patients présentant une réactivation du CMV ($p=0,0017$). De manière intéressante, nous avons observé pour la première fois que les profils d'EPS atypiques apparaissaient principalement chez les patients greffés à partir d'un donneur CMV+ ($p=0,031$). La réactivation du CMV a précédé l'apparition d'une EPS atypique chez la majorité des patients. Nous avons montré que l'EPS atypique retardait la rechute de la maladie maligne sous-jacente (486 vs 189 jours, $p=0,006$), et améliorait significativement la survie globale (OS ; 33,1 mois vs 28,3 mois, $p=0,049$). Les analyses univariées et multivariées ont montré que la présence d'une EPS atypique était le seul facteur significativement corrélé à l'amélioration de la survie globale.

Conclusions : La présence de composants monoclonaux ou oligoclonaux sur l'EPS, après une allo-HSCT, semble témoigner d'une réponse immunitaire post-greffe efficace. Celle-ci pourrait être liée à une expansion clonale anti-CMV à partir de cellules de donneur pré-immunisées, et/ou refléter à la fois l'activité GVH et GVL, conduisant à des résultats favorables. Cette étude apporte aux cliniciens de nouvelles perspectives concernant l'interprétation des EPS, en montrant que les profils atypiques sont courants, bénins et associés à une amélioration du pronostic après une allo-HSCT.

Mots clés : *Électrophorèse Allogreffe Gammopathie*



6) Intervention informatisée pour l'amélioration des difficultés cognitives chez les femmes traitées pour un cancer du sein : étude pilote COG-STIM.

Giulia BINARELLI^{1,2}, Marie LANGE^{1,2,3}, Mélanie DOSSANTOS¹, Sophie LEFEVREARBOGAST¹, Jean-Michel GRELLARD¹, Laure TRON^{1,2}, Bénédicte CLARISSE¹, Florence JOLY^{1,2,3,4}

¹ Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14076 Caen, France

² Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

³ Cancer and cognition Platform, Ligue Nationale Contre le Cancer, 14000 Caen, France

⁴ University Hospital of Caen, 14000 Caen, France

Contexte : Les troubles cognitifs liés au cancer sont un effet secondaire fréquent des traitements anticancéreux (40 à 70%), avec des conséquences importantes sur la qualité de vie des patients. Les résultats d'une enquête nationale menée par la Plateforme Cancer et Cognition en collaboration avec l'association les Seintinelles, montrent que 75% des participantes auraient souhaité bénéficier d'une intervention spécifique dont préférentiellement une stimulation cognitive (72%), plus ou moins associée à la pratique d'une activité physique (32%). La stimulation cognitive et l'activité physique se sont avérées être les interventions les plus efficaces pour améliorer les troubles cognitifs. Toutefois, ces interventions sont difficiles à mettre en place en routine clinique. Récemment, pour pallier à ces limites, l'attention s'est tournée vers les interventions informatisées, en raison de leur bon rapport qualité/prix/accessibilité, de leur adaptabilité aux besoins individuels, ainsi que de leur capacité à promouvoir l'engagement et à soutenir la motivation. En outre, face à la crise actuelle de COVID 19, il est de plus en plus important de développer des interventions à distance.

Objectifs : L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la faisabilité et l'acceptabilité d'une intervention multimodale informatisée et à domicile, comportant des séances d'activité physique adaptée (APA) à des séances de stimulation cognitive. Les objectifs secondaires sont d'évaluer la satisfaction des participantes au programme, ainsi que d'identifier les motifs de non-participation, d'abandon et les limites du programme.

Méthode/conception : Il est prévu d'inclure 20 patientes dans cette étude pilote interventionnelle mono-centrique. Les patientes réaliseront à domicile, pendant 12 semaines, un programme comportant 2 séances/semaine de stimulation cognitive sur un logiciel en ligne (HappyNeuron, 20min/séance), et 2 séances/semaine d'APA (Mooven, 30min/séance) encadrées en visio-conférence par un éducateur sportif spécialisé en APA. Le logiciel HappyNeuron (avec ses 41 exercices et 9 niveaux de difficultés) permet d'entraîner les domaines cognitifs les plus altérés en oncologie (mémoire, attention, fonctions exécutives et vitesse de traitement). Chaque séance d'APA combinera des exercices d'échauffement (5 minutes), d'entraînement (25 minutes) et de relaxation et étirements (5 minutes). La faisabilité de l'étude sera évaluée à travers la réalisation de 70% du contenu du programme (critère de jugement principal). L'acceptabilité du programme sera évaluée grâce à un questionnaire de satisfaction. La plainte cognitive (questionnaire FACT-Cog) et les performances cognitives objectives (logiciel CNS Vital Signs), ainsi que l'anxiété/ dépression (HADS), les troubles du sommeil (ISI) et la fatigue (FACIT), seront évaluées avant intervention (T0) et à la fin du programme (T1).

Etat d'avancement : à l'heure actuelle 16 patientes/20 ont été incluse dans l'étude pilote COG-STIM. Parmi elles, 13 patientes ont déjà terminé le programme et ont rapporté d'être très satisfaites de ce type d'intervention.

Discussion : Cette étude est un prérequis indispensable avant d'envisager une étude de plus grande ampleur (essai randomisé contrôlé multicentrique) visant à évaluer l'intérêt et l'efficacité d'une prise en charge cognitive informatisée combinée à des séances d'APA, moderne et facilement généralisable, auprès de patientes atteintes d'un cancer du sein, dans la perspective de réduire leur plainte cognitive. En termes de santé publique, cela permettra de mieux accompagner les patientes pour une réadaptation optimale à leur environnement de vie et ainsi d'améliorer leur qualité de vie au quotidien et de faciliter leur reprise d'activité professionnelle.

Mots clés : *Intervention informatisée, plainte cognitive, cancer, APA, stimulation cognitive, intervention multimodale*



Poster

7) Intervention informatisée pour l'amélioration des difficultés cognitives chez les femmes traitées pour un cancer du sein âgées plus de 70 ans : étude pilote bi-centrique COG-TABAGE.

Giulia BINARELLI^{1,2}, Marie LANGE^{1,2,3}, Mélanie DOSSANTOS¹, Sophie LEFEVREARBOGAST¹, Jean-Michel GRELLARD¹, Laure TRON^{1,2}, Bénédicte CLARISSE¹, Florence JOLY^{1,2,3,4}

¹ Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14076 Caen, France

² Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

³ Cancer and cognition Platform, Ligue Nationale Contre le Cancer, 14000 Caen, France

⁴ University Hospital of Caen, 14000 Caen, France

Contexte : Les troubles cognitifs sont un des effets secondaires les plus fréquents des traitements anticancéreux (« chemobrain ») (40-70%), surtout chez le patient âgé en raison de sa fragilité. Au-delà de l'impact négatif sur la qualité de vie, ces troubles cognitifs peuvent également avoir un impact sur l'autonomie des patients âgés et sur leur observance des traitements oncologiques. Bien qu'il n'existe pas encore de mesures préventives, la prise en charge des troubles cognitifs liés au cancer commence à se développer, et la stimulation cognitive informatisée pourrait être une des pistes les plus prometteuses pour intervenir sur ces difficultés. Cependant, actuellement aucune étude n'a porté sur l'utilisation d'un tel outil auprès de patients âgés.

Objectif : L'objectif de cette étude est d'évaluer la faisabilité et l'acceptabilité de l'utilisation du logiciel de stimulation cognitive HAPPYNeuron® sur un support tactile (tablette) auprès de patientes âgées de 70 ans et plus et suivies pour un cancer du sein.

Méthode : Il est prévu d'inclure 55 patientes dans cette étude bi-centrique (centre François Baclesse et centre Henri Becquerel). L'étude concerne les patientes âgées de 70 ans et plus, suivies pour un cancer du sein par chimiothérapie, thérapie adjuvante ou radiothérapie, auxquelles il sera demandé de réaliser 3 séances de stimulation cognitive avec le logiciel HappyNeuron (41 exercices et 9 niveaux de difficultés permettant d'entraîner les domaines cognitifs les plus altérés en oncologie) sur un support tactile (tablette). L'absence de difficultés cognitives majeures pour participer à l'étude sera évaluée par la MoCA. Lors du bilan d'inclusion (T0), la plainte cognitive des patientes sera évaluée à travers l'auto-questionnaire FACT-COG. La première séance sera consacrée à la familiarisation avec le logiciel et encadrée par un neuropsychologue. Les 2 autres séances seront réalisées en autonomie par les patientes. Le critère de jugement principal est la réalisation d'au moins 3 exercices proposés en 10 minutes maximum lors d'une des 2 séances en autonomie. L'acceptabilité de l'intervention sera évaluée grâce à un questionnaire de satisfaction.

Etat d'avancement : A l'heure actuelle 17 patientes/55 ont été incluses dans l'étude COG-TABAGE.

Discussion : Cette étude est le prérequis indispensable avant d'envisager une étude randomisée visant à évaluer l'intérêt et l'efficacité d'une intervention cognitive informatisée auprès de patientes âgées atteintes d'un cancer du sein. Plus largement, cette étude de faisabilité contribuera à proposer des modalités de prise en charge des troubles cognitifs en oncologie facilement généralisables dans les services de soins, qui pourront être intégrées par la suite parmi les soins de support en oncologie.

Mots clés : *Intervention informatisée, plainte cognitive, cancer, stimulation cognitive, population âgée*



Session Jeunes chercheurs

Poster

Clémence BOSCHER
(excusée)

8) Plainte cognitive et facteurs psychologiques associés chez les patientes après un cancer du sein.

Clémence BOSCHER¹, Florence JOLY^{1,2,3,4}, Bénédicte CLARISSE¹, Xavier HUMBERT^{4,5}, Jean-Michel GRELLARD¹, Giulia BINARELLI^{1,2}, Laure TRON^{2,3}, Ildir LICAJ⁶, Marie LANGE^{1,2,3}

¹ Centre François Baclesse, Caen

² INSERM U1086, ANTICIPE, Normandie Université, UNICAEN, Caen

³ Plateforme Cancer et cognition, Ligue Nationale Contre le Cancer, Caen

⁴ Centre Hospitalier Universitaire, Caen

⁵ Université de Normandie, UNICAEN, Caen

⁶ The UiT Arctic University of Norway, 9010 Tromsø, Norway

Introduction : Les troubles cognitifs sont des effets indésirables courants chez les patients atteints de cancer. L'identification des sujets à risque pourrait permettre de limiter leur impact.

Méthode : Nous avons voulu étudier la relation entre les plaintes cognitives actuelles et les facteurs démographiques et psychologiques dans un groupe de femmes traitées pour un cancer du sein. Grâce à une enquête en ligne, les participantes ont fait part de leurs troubles cognitifs actuels à l'aide du questionnaire FACT-Cog (Perceived Cognitive Impairment) et ont répondu à des questions sur leurs caractéristiques démographiques, leur mode de vie et les caractéristiques liées à leur cancer. L'anxiété, la dépression, la fatigue et les symptômes de stress post-traumatique ont également été évalués. Nous avons utilisé des modèles de régression logistique multivariable pour explorer les relations entre les troubles cognitifs actuels et les facteurs sociaux et psychologiques.

Résultats : Parmi les 1393 participantes, 47,2 % (n = 657) ont rapporté des troubles cognitifs actuels. La chimiothérapie (OR = 2,26, IC 95% = 1,67-3,05), l'âge (OR_{21-44 ans vs. > 65 ans} = 0,14, IC 95% = 0,07-0,27), les troubles du sommeil (OR_{jamais vs. souvent} = 2,41, IC 95% = 1,47-3,95), la fréquence des traitements psychotropes (OR jamais vs. >1/semaine = 1,70, IC 95% = 1,23-2,36), les symptômes de stress post-traumatique (OR = 2,05, IC 95% = 1,57-2,69) et le statut professionnel (OR_{temps plein ou temps partiel vs. arrêt maladie} = 1,64, IC 95% = 1,08-2,49) étaient fortement associés aux troubles cognitifs actuels.

Conclusion : Dans cette vaste étude, environ la moitié des femmes ayant été traitées pour un cancer du sein ont fait état de troubles cognitifs, en particulier après une chimiothérapie. Certains facteurs de risque doivent être détectés précocement pour réduire les plaintes cognitives persistantes après le cancer : principalement les troubles du sommeil, les symptômes de stress post-traumatique et les médicaments psychotropes.

Mots clés : Cancer du sein ; Plainte cognitive ; Stress post-traumatique

NOTES



Robert-Alain TOILLON¹, Caroline MYSIOREK², Julien CICERO^{1,2}

¹ CANTHER - CNRS 9020 - INSERM 1277

² LBHE - UR 2465

Avec près de 2,1 millions de cas diagnostiqués dans le monde chaque année et environ 625 000 décès en 2018, le cancer du sein est la première cause de mortalité par cancer chez la femme. Malgré les améliorations considérables de la prise en charge des patients et des thérapies, le développement métastatique représente une évolution particulièrement délétère pour ce type de cancer. Outre les décès, les métastases cérébrales engendrent des complications cognitives sévères qui dégradent ainsi fortement leur qualité de vie. L'incidence des métastases cérébrales est variable selon les sous-types de cancer du sein : de 14 % pour les ER+ à plus de 33 % pour les HER2 positifs et même 50 % dans les « triple négatifs » (TN). Il est donc crucial de connaître les acteurs moléculaires qui favorisent la dissémination métastatique des cancers du sein TN au cerveau.

Mes travaux portent sur la mise au point différents modèles in vitro et in vivo qui permettront d'étudier : 1) l'interaction des cellules cancéreuses mammaire avec la BHE (Barrière Hémato-Encéphalique) et 2) la persistance et le développement de ces cellules dans le parenchyme cérébral.

I. Compréhension des mécanismes d'extravasation des cellules cancéreuses mammaires : **Modèle humain de BHE**

Le LBHE (Laboratoire de la barrière hémato-encéphalique) a développé un modèle in vitro de BHE humaine. Ce système permet d'étudier l'influence de différents types cellulaires sur les propriétés de BHE (adhésion, transmigration...) mais également l'évaluation du passage de molécules et de cellules au travers de l'endothélium de BHE.

II. Persistance et développement tumoral dans le parenchyme cérébral : **Modèle humain de matrice 3D organotypique**

Il existe de nombreuses interactions entre les cellules cancéreuses et leur microenvironnement. Le parenchyme cérébral offre des conditions particulières aux métastases des cellules cancéreuses de par la présence de la BHE mais aussi par son microenvironnement spécialisé. Par conséquent, pour mimer le microenvironnement des cellules tumorales, celles-ci peuvent être cultivés au sein de différentes matrices 3D organotypiques qui présentent des propriétés équivalentes à ce qui est retrouvé dans le parenchyme cérébral.

III. Validation dans des modèles in vivo

Avec la collaboration du laboratoire INSERM U1172, nous avons développé un modèle **iDISCO** (immunolabeling 3D imaging of solvent-cleared organs) sur coupes épaisses (environ 1 mm) des cerveaux et sur cerveaux entiers des souris xénogreffées. Ainsi, l'organe sera transparent, ce qui permettra de déterminer la localisation précise des métastases dans les différentes structures cérébrales (vaisseaux sanguins, BHE et parenchyme), mais aussi d'évaluer la tumorigénèse et l'angiogénèse.

Mots clés : Cancer du sein, Métastase cérébrale, Barrière hémato-encéphalique, Matrice 3D organotypique, iDISCO



19) Impact d'une irradiation cérébrale hémisphérique sur le tissu cérébral sain et la cognition: étude longitudinale et multiparamétrique chez le rat.

Fatima-Azzahra DWIRI, Julie BÉCAM, Carole BRUNAUD, Laurent CHAZALVIEL, Samuel VALABLE, Myriam BERNAUDIN, Elodie PÉRÈS, Omar TOUZANI

Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/CERVOxy group, GIP Cyceron, Caen, France

Introduction : Bien que la radiothérapie (RT) améliore le pronostic des patients atteints de cancer du cerveau, elle affecte également le tissu cérébral sain, ce phénomène étant reconnu pour induire des déficits cognitifs irréversibles chez les patients survivants. La qualité de vie des patients subissant une RT s'est vue accorder une plus grande importance en oncologie, et aujourd'hui, l'objectif est de cibler spécifiquement les tumeurs cérébrales tout en épargnant les tissus sains environnants ainsi que les organes à risque. Ainsi, au cours des 15 dernières années, les avancées technologiques ont permis de concevoir de nouvelles techniques de RT qui permettent de délivrer plusieurs faisceaux et de moduler les doses déposées lors de l'irradiation. Bien que ces nouvelles modalités de RT soient de plus en plus utilisées en routine clinique, leurs intérêts pour prévenir la radiotoxicité cérébrale reste à démontrer, en s'appuyant notamment sur des recherches précliniques pour lesquelles l'utilisation de ces techniques de RT est fragmentaire à ce jour. Dans ce but, le développement de modèles animaux est d'une importance majeure pour élucider l'impact neurologique et cognitif de la RT ciblée et ainsi, développer des thérapies plus efficaces.

Objectifs : Cette étude vise à mieux comprendre les effets de l'irradiation cérébrale ciblée sur l'intégrité tissulaire et la cognition dans un modèle de rat adulte.

Matériels & Méthodes : Des rats Wistar mâles âgés de 5 mois ont été divisés en 2 groupes : animaux contrôles (CTL) et irradiés (IR). Une irradiation fractionnée délivrant une dose totale de 30Gy a été appliquée sur l'hémisphère droit du cerveau à l'aide d'un irradiateur préclinique couplé à un scanner (X-RAD 225Cx, Cyceron). Une batterie de tests comportementaux a été réalisée pendant 6 mois après irradiation afin d'analyser les mémoires à court terme (reconnaissance d'objets, NOR) et à long terme (évitement passif, PA) ainsi que l'apprentissage spatial et la mémoire de référence (piscine de Morris, MWM). L'activité locomotrice et l'anxiété des animaux ont été évaluées respectivement par des tests d'actimétrie et labyrinthe en croix surélevée (EPM). Des analyses IRM séquentielles (T2w) ont également été menées afin d'évaluer la macrostructure cérébrale.

Résultats : La mémoire à long terme n'a pas été altérée dans le groupe IR contrairement à la mémoire à court terme dont l'indice de reconnaissance du nouvel objet quantifié dans le test NOR était diminué 3 jours post-irradiation par rapport aux animaux CTL. Les différents paramètres mesurés lors de la phase d'entraînement du test MWM ont montré une altération significative de l'apprentissage chez les rats IR à 2 semaines et 5 mois après l'irradiation cérébrale hémisphérique comparés aux rats CTL. L'actimétrie n'a révélé aucune différence majeure entre les groupes IR et CTL, cependant, concernant l'activité locomotrice, l'activité d'exploration des animaux IR était significativement plus élevée à 2 semaines, 2 mois et significativement plus faible à 4 mois post-irradiation en comparaison aux rats CTL. Le test de l'EP quant à lui a mis en évidence que les rats IR présentaient un comportement de type anxieux plus important que les rats CTL à 2 semaines et 5 mois post-irradiation. Les études en IRM anatomique ont permis de montrer l'absence de radionécrose ou d'œdème après une irradiation cérébrale hémisphérique. En revanche, même si aucune différence macroscopique n'était visible sur les images T2w entre les 2 groupes d'animaux, les analyses quantitatives du volume cérébral ont révélé une réduction significative du volume de l'hémisphère irradié des animaux IR par rapport aux CTL.

Conclusion : Les données de notre étude soulignent que l'irradiation cérébrale ciblée induit des lésions cérébrales et des déficits cognitifs chez le rat. L'utilisation de ce modèle animal semble pertinente pour tester des stratégies thérapeutiques visant à prévenir ou contrer les atteintes neuropathologiques consécutives à la RT.

Remerciements : CNRS, UNICAEN, Archade, Cancéropôle Nord-Ouest, ANR-10-EQPX1401, Région Normandie et Etat dans le cadre du CPIER « Vallée de la Seine » 2015-2020 (projet HABIONOR) et CPER 2015-2020 (projet Cancer-COG), plateau technique BRP (behavioral research platform, Unicaen).

Mots clés : Radiothérapie, Cerveau, Effets secondaires, Déficits cognitifs, IRM



21) Caractérisation de l'hypoxie dans les métastases cérébrales issues de cancer du poumon : de l'approche clinique à la pré-clinique.

Jade FANTIN ¹, Aurélien CORROYER-DULMONT ^{1,2}, Samuel VALABLE ¹, Jérôme TOUTAIN ¹, Sylvain TEULIER ^{1,3}, Céline BAZILLE ^{1,4}, Jérôme LEVALLET ¹, Françoise CHAPON ⁴, Guénaëlle LEVALLET ^{1,4}, Myriam BERNAUDIN ¹

¹ Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, Unité ISTCT/CERVOxy, GIP CYCERON, 14000 Caen, France

² Département de Physique Médicale, CLCC François Baclesse, 14000 Caen, France

³ Département de Pneumologie et d'Oncologie Thoracique, Centre Hospitalier Universitaire de Caen, Caen, France

⁴ Département de Pathologies, Centre Hospitalier Universitaire de Caen, Caen, France

Introduction : L'hypoxie est une caractéristique majeure dans de nombreux cancers solides dont les cancers du poumon. Les patients atteints de cancer du poumon développent fréquemment (40%) des métastases cérébrales (MC) qui pourraient être elles-mêmes hypoxiques. En dépit d'un traitement agressif basé sur une chirurgie et de la radiothérapie externe, la survie globale de ces patients atteints de MC reste faible (6-9 mois après diagnostic). Le microenvironnement intra-tumoral hypoxique génère, via l'activation du facteur de transcription Hypoxia-inducible Factor (HIF), dont il existe 3 isoformes : HIF-1, HIF-2 et HIF-3, l'expression de nombreux gènes impliqués dans des processus de progression tumorale ainsi que de résistance aux traitements anticancéreux faisant de l'hypoxie un facteur de mauvais pronostic. L'ensemble de ces données sous-tend l'intérêt de mieux caractériser les MC en termes d'hypoxie et d'adapter le traitement des MC à leur microenvironnement tumoral.

Matériel et méthode : Dans un premier temps, l'hypoxie a été étudiée indirectement par immunomarquage de l'anhydrase carbonique-IX (CA-IX), dont le gène est régulé via HIF-1, dans 28 biopsies de patients atteints de MC issue d'adénocarcinomes pulmonaires. En complément, un immunomarquage HIF-1 α a été réalisé sur 4 des 28 biopsies. Au niveau pré-clinique, l'hypoxie a été déterminée par immunomarquage du pimonidazole, CA-IX, HIF-1 α et HIF-2 α dans différents modèles de MC induits chez des rats nus (femelles âgées de 8 semaines) soit par injection intracérébrale, dans le cortex et le striatum, de cellules tumorales humaines H2030-BrM3 (MSKCC, Dr Joan Massagué, USA) (n= 3) ou H1915 (ATCC, CRL5904) (n= 3), soit par injection intracardiaque de cellules tumorales H2030-BrM3 (n=5). De plus, l'expression de HIF-1 α et HIF-2 α et certains de leurs gènes cibles (TUBB3, CA-IX, VEGF-A, GLUT-1 et CCDN1) a été identifiée par qRT-PCR et immunocytochimie sur les cellules H2030-BrM3 en condition de normoxie et d'hypoxie (1% O₂).

Résultats : 78.6% des biopsies de MC issues de patients présentent un marquage CA-IX. Les résultats issus de 4 biopsies montrent également un marquage d'HIF-1 α dans les zones où CA-IX est plus fortement exprimée. De plus, les données pré-cliniques obtenues chez le Rat montrent un marquage pimonidazole, CA-IX et HIFs dans les MC issues d'injections intracérébrales des H2030-BrM3 et H1915. Quant aux MC issues d'injections intracardiaque de H2030-BrM3, il s'avère que 86% des MC sont positives au pimonidazole et présentent un marquage HIF-2 α et CA-IX. Les études immunocytochimiques révèlent bien une expression des sous-unités HIF-1 et HIF-2 dans les cellules H2030-BrM3 en conditions normoxique et hypoxique. Enfin, l'hypoxie entraîne une augmentation de l'expression génique des gènes cibles de HIF-1 et HIF-2 dont TUBB3 (1,87 fois augmentée), VEGF-A (2,8 fois augmentée), GLUT-1 (3,5 fois augmentée), CCDN1 (1,9 fois augmentée) et CA-IX (35,2 fois augmentée).

Conclusion : Ces résultats soulignent la présence d'un microenvironnement hypoxique ainsi qu'une expression des HIFs et leur gènes cibles dans les MC issues d'adénocarcinomes pulmonaires humains. Ils démontrent l'utilité de poursuivre des recherches précliniques pour identifier l'intérêt d'approches théranostiques qui cibleraient ces facteurs dans les MC.

Financements : Région Normandie, CNRS, Université de Caen-Normandie, Union Européenne-Fonds Européen de Développement Régional (FEDER) et l'Agence Nationale de la Recherche « Investissements d'Avenir » n° ANR-11-LABEX-0018-01.

Mots clés : Cancer, hypoxie, HIFs, métastases cérébrales



33) « Piège local » pour la chimioattraction des cellules tumorales dans des modèles murins de résection de glioblastome.

Emmanuel LAILLET DE MONTULLÉ^{1,2}, Martine DUBOIS^{1,2}, François-Xavier FERRACCI^{1,2,3}, Alexandre MUTEL^{1,2}, Kleouforo Paul DEMBELE^{1,2}, Laurence DESRUJES^{1,2}, Morgane MOREL⁴, Didier LE CERF⁴, Luc PICTON⁴, Olivier LANGLOIS^{1,3}, Stéphane DERREY³, Oana CHEVER^{1,2}, Fabrice MORIN^{1,2}, Pierrick GANDOLFO^{1,2}, Hélène CASTEL^{1,2}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000 Rouen, France

² Institut pour la Recherche et l'Innovation en Biomédecine (IRIB), 76000 Rouen, France

³ Département de Neurochirurgie, CHU de Rouen, France

⁴ Normandie Univ, UNIROUEN, INSA Rouen, CNRS, PBS UMR 6270, 76000 Rouen, France

Contexte : Le protocole actuel standard de traitement des GB consiste en l'exérèse complète de la masse tumorale par chirurgie associée à un traitement combiné de radiothérapie et chimiothérapie. Cependant, plus de 95% des GB récidivent en marge de la cavité de résection, zone dans laquelle on retrouve des cellules tumorales invasives agissant comme un réservoir de tumeur. Cette invasivité associée à la radio et/ou chimiorésistance de ces cellules, la présence d'une barrière hémato-encéphalique qui limite l'acheminement des agents anti-néoplasiques, et au microenvironnement immunosuppresseur justifient le développement de stratégies thérapeutiques originales.

Objectif : Dans un modèle murin de croissance et d'exérèse de GB, nous proposons d'introduire dans la cavité de résection un hydrogel biocompatible contenant un chimiopéptide nommé urotensine II (UII) ou un analogue synthétique biaisé, le [Pen5, D-Trp7, Dab8]-UII (4-11) (DAB8) permettant i) d'attirer dans ces pièges les cellules de GB exprimant le récepteur de l'UII (récepteur UT), ii) de stimuler les cellules du système immunitaire pour contrecarrer l'immunosuppression, et iii) de cibler les cellules de GB en présence d'une chimiothérapie locale.

Méthodes : *In vitro*, l'invasion des lignées de GB humaines U87-GFP et 42MG-GFP ou murines GL261-GFP et CT2A-Luc a été évaluée en chambre de Boyden et en anneau de clonage, avec des hydrogels de type acide hyaluronique seul (n=10), HA additionné de collagène (n=7), de jeffamine (n=6) ou « innovant » (n=6), PNIPAAm-PEG (n=8) ou une colle chirurgicale de type thrombine-fibrinogène (n=11) contenant l'UII (10-9 M) ou le DAB8 (10-9 M). *In vivo*, des souris mâles Nude ou C57BL/6 exprimant l'UT humain (UT+/+) ou délétées du gène UT (UT-/-) ont été xénotransplantées par injection intrastriale de GB humains U87-GFP et 42MG-GFP ou murins GL261-GFP et CT2A-Luc (Tumeur). A 9 jours (GL261 et CT2A), 25 jours (U87) ou 35 jours (42MG) post-injection, une exérèse tumorale est réalisée (Res) et la colle ou l'hydrogel (H) innovant contenant ou non l'UII (H-UII) ou du DAB8 (H-DAB8) a été injecté dans la cavité de résection. Pour les souris C57BL/6, l'anxiété (plus-maze - J6, J15), la dépression (FST - J6, J14), l'activité spontanée (openfield - J7, J16) et la cognition (NOR - J8, J17) ont été étudiées et la survie a été évaluée. Après prélèvement, les cerveaux ont été analysés par immunofluorescence.

Résultats : *In vitro*, l'UII et le DAB8 exercent un effet chimioattractant dans les différents hydrogels testés vis-à-vis des lignées de GB exprimant l'UT. *In vivo*, la survie des souris C57BL/6-GL261 et CT2A Res (n=16, p=0.0005 ; n=7 p=0.0056), H (n=19, p<0.0001 ; n=5, p=0.05), H-UII (n=16, p<0.0001 ; n=7 p=0.005) et H-DAB8 (n=12, p<0.0001) est améliorée par rapport aux souris Tumeur (n=36, n=16). Chez les souris Nude-U87, une survie améliorée a été aussi retrouvée pour les souris H-UII (n=9, p=0,0019) par rapport aux souris Tumeur (n=13). La dépression et l'anxiété sont réduites et l'activité motrice est améliorée chez les souris Res (p=0.015), H (p<0,0001), H-UII (p<0,0001) et H-DAB8 (p=0,0034) par rapport aux souris Tumeur suggérant une amélioration générale. Surtout, les souris Tumeur présentent des déficits cognitifs non retrouvés chez les souris H (p=0,03), H-UII (p=0,001) et H-DAB8 (p=0,002), montrant une récupération cognitive après remplissage de la cavité par l'hydrogel. *Ex vivo*, une forte expression de l'UT et de l'UII est révélée dans, et en contact avec, les macrophages F4/80+ et les cellules tumorales GFP+ au sein du GB et à l'interface avec le cerveau sain. Ces cellules de GB migrent le long des vaisseaux tumoraux tortueux podocalyxin+ et sont en interaction avec les astrocytes GFAP+ situés à proximité des neurones NeuN+. Après résection, les macrophages, astrocytes et cellules de GB se retrouvent en bordure de la cavité et en contact avec l'H-UII suggérant une réactivité cellulaire accrue et un recrutement par chimioattraction de ces cellules vers l'hydrogel.

Conclusion : Ces données indiquent qu'un hydrogel local contenant une chimiokine inflammatoire (UII) peut piéger les cellules de GB et favoriser le rôle de macrophages inflammatoires, probablement associés à la survie et l'amélioration du déficit cognitif, ce qui offre un nouvel espoir thérapeutique dans le traitement de la GB

Supporté par la Ligue Normandie contre le Cancer, la Région Normandie, l'Université de Rouen Normandie et l'Inserm.

Mots clés : Glioblastome, hydrogel, urotensine II, modèle de résection, invasion



35) Développement d'approches Ex vivo et In vivo pour étudier les dynamiques de l'invasion des cellules de glioblastome dans la substance blanche.

Quentin LEMERCIER ^{1,2}, Laurence DESRUES ^{1,2}, David GODEFROY ^{1,2}, Lucie MARTIN ^{1,2}, Pierrick GANDOLFO ^{1,2}, Héliène CASTEL ^{1,2}, Oana CHEVER ^{1,2}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000 Rouen, France - INSERM U1239 - France

² Institut pour la Recherche et l'Innovation en Biomédecine (IRIB), 76000 Rouen, France - IRIB Haute-Normandie - France

Le glioblastome est un gliome, une tumeur d'origine gliale. C'est la tumeur primitive du système nerveux central la plus fréquente et la plus agressive chez l'adulte, avec une médiane de survie de 14,6 mois après traitement standard. Ce mauvais pronostic est lié notamment au caractère invasif des cellules tumorales gliales qui envahissent le parenchyme nerveux, conduisant à la survenue de récurrences, et d'échecs thérapeutiques. Comprendre les mécanismes permettant l'invasion du parenchyme cérébral s'avère donc nécessaire pour envisager de nouvelles voies thérapeutiques pour traiter ce cancer. Pour migrer, les cellules de gliome empruntent préférentiellement le long des faisceaux sanguins ou les faisceaux de substance blanche. Si la migration périvasculaire est bien caractérisée, les mécanismes relayant l'invasion tumorale au sein de la substance blanche sont encore mal connus. La substance blanche se compose principalement de faisceaux de fibres nerveuses, support d'une connectivité anatomo-fonctionnelle entre régions cérébrales distantes. L'invasion tumorale est-elle dépendante à l'activité de ces fibres nerveuses ? Les faisceaux de fibres nerveuses sont-ils au contraire utilisés comme de simples matrices inertes, pour une migration tumorale à longue distance ? Pour répondre à ces questions, il est nécessaire au préalable de développer des outils expérimentaux permettant d'étudier la migration au sein de la substance blanche.

Dans l'optique d'étudier la dynamique dans le temps de l'invasion des cellules de glioblastome, et les remaniements tissulaires associés, des approches expérimentales *in vivo* et *ex vivo* ont été mises en place.

Dans un premier temps, un modèle *in vivo* a été mis en place, consistant en l'injection stéréotaxique de lignées de cellules de gliome murines (GL261 et CT2A) et humaines (U87, 42MG et 8MG) exprimant la protéine fluorescente verte rapportrice GFP (Green Fluorescent Protein), directement au sein de la substance blanche, de souris adultes immunocompétentes C57Bl/6J et immunodéficientes *Nude*. Des immunomarquages, acquisitions confocales et analyses d'images associées (Image J, R) ont permis d'étudier le degré d'infiltration tumorale au sein de la substance blanche. Cette étude révèle que, dépendamment des lignées cellulaires étudiées, l'invasion progresse sur plusieurs centaines de micromètres le long des faisceaux de fibres. L'infiltration tumorale, à distance de la masse tumorale, est de plus associée à une astrogliose précoce et démyélinisation. Des études immunohistochimiques sur cerveaux entiers transparents (technique iDISCO associant transparence et microscopie à feuillet de lumière), combinant des marquages révélant la GFAP (*Glial fibrillary acidic protein*) pour imager les astrocytes, la MBP (*Myelin basic protein*) pour imager la myéline, confirment l'infiltration des cellules de gliome (GFP+) à distance de la masse tumorale, au sein de la substance blanche. Enfin, l'utilisation d'injections corticales d'AAV (Adéno-virus associés recombinants de type AAV5-hSyn1-mCherry) additionnelle, offre la possibilité de révéler des faisceaux de fibres fonctionnels en parallèle.

Dans un deuxième temps, des cultures organotypiques ont été mise en place pour étudier la dynamique d'infiltration tumorale au sein de la substance blanche *ex vivo*. Des lignées cellulaires murines GL261 et humaines U87, exprimant la GFP, ont été déposées sur les tranches de tissus, provenant de cerveaux de souris C57BL6/J de 4 à 6 semaines. Des acquisitions confocales et un traitement de l'image confirme un tropisme pour la substance blanche et permettent une évaluation longitudinale de la progression tumorale au fil des semaines.

Ces deux approches expérimentales, *ex vivo* et *in vivo*, seront utilisées à terme pour étudier l'impact de l'activité neuronale sur la migration des cellules tumorales au sein de la substance blanche, une voie majeure de migration gliomale encore peu étudiée le long des vaisseaux et des axones myélinisés et non myélinisés, en utilisant des approches pharmacologiques, d'imagerie et optogénétiques. Cette mise en place d'outils permettra l'étude de la migration des cellules de glioblastome de la substance blanche, une voie majeure de migration gliomale encore peu étudiée.

Soutenu par : FEDER (Fonds Européen de Développement Régional), Région Normandie, Cancéropôle Nord-Ouest, INSERM, Université de Rouen Normandie, Géfluc, Ligue Régionale contre le Cancer.

Mots clés : Glioblastome, substance blanche, axones, vaisseaux, migration



38) Contraintes physiques au cours de la migration chimiotactique des gliomes : altérations nucléaires et potentielle instabilité génétique.

Lucie MARTIN ^{1,2}, Alexandre MUTEL ^{1,2}, Laurence DESRUES ^{1,2}, Maité VERREAULT ³, Florent MARGUET ^{1,2,4}, Olivier LANGLOIS ^{1,2,5}, Ahmed IDBAIH ³, Pierrick GANDOLFO ^{1,2}, Oana CHEVER ^{1,2}, Fabrice MORIN ^{1,2}, Hélène CASTEL ^{1,2}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000 Rouen, France

² Institut pour la Recherche et l'Innovation en Biomédecine (IRIB), 76000 Rouen, France

³ Hôpital Pitié-Salpêtrière, ICM, Paris

⁴ Département d'anatomocytopathologie, CHU de Rouen, France

⁵ Département de Neurochirurgie, CHU de Rouen, France

Contexte : Le glioblastome multiforme (GB) est la tumeur cérébrale la plus fréquente et la plus agressive du système nerveux central. Malgré le traitement standard (protocole de Stupp), qui consiste en une résection chirurgicale, une radiothérapie/chimiothérapie suivie d'une chimiothérapie au témozolomide, la médiane de survie des patients n'est que d'environ 18 mois. Ce mauvais pronostic s'explique en partie par l'invasion des cellules tumorales, favorisée par des molécules chimioattractantes, le long des vaisseaux sanguins et/ou les tractus de substance blanche et par la résistance aux traitements. Ces voies de migration sont susceptibles d'impliquer diverses contraintes physiques et mécaniques, de fait l'invasion des cellules nécessite en partie la déformation du noyau au sein des espaces disponibles de la matrice extracellulaire. Ainsi, la perte de l'intégrité de l'enveloppe nucléaire (EN) induite par une réduction de l'expression des lamines A/C et/ou B1/B2 dans les tissus solides/rigides peut favoriser l'accumulation de dommages à l'ADN et des modifications épigénétiques, via la diffusion des protéines de réparation de l'ADN dans le cytoplasme. Ces contraintes au cours de la migration peuvent ainsi conduire à une hétérogénéité moléculaire, la récurrence et la résistance aux traitements.

Méthodes et résultats : L'analyse des bases de données *The Cancer Genome Atlas* et *IVY-glioblastoma atlas project* ont été réalisées afin d'évaluer la variabilité d'expression des gènes codant les protéines de l'EN et de réparation de l'ADN dans les différents sous-groupes moléculaires de gliomes. Globalement, les gènes codant pour les protéines de réparation de l'ADN, comme Ku80, RAD51 et la ligase IV ainsi que les protéines de l'EN telles que les lamines A/C, B1 et B2, et SUN2 sont différentiellement exprimés (*p<0,05) entre les gliomes, et au sein des sous-groupes de GB. Ces hétérogénéités d'expression sont également constatées entre les différentes zones spécifiques d'un GB, notamment une plus faible expression de lamine A/B1 est spécifiquement détectée dans des zones d'infiltration, des zones peu vasculaires et de plus faible densité cellulaire. Des expériences immunohistochimiques sur coupes de GB de patients confirment l'expression différentielle de la lamine A/C entre certains GB. De plus, la détection de lamine B1 dans des zones péri-nécrotiques souvent de nature hypoxique et de faible densité cellulaire est associée à une diminution d'expression nucléaire de Ku80, suggérant peu de cassures double brin de l'ADN dans ces cellules. Sur les lignées cellulaires de gliomes adhérentes (U87, 8MG, U251), et de GB dérivées de patients, une augmentation de la densité cellulaire est totalement corrélée à une plus forte expression des lamines A/C et B1 (*p<0,05). Cette expression des protéines de l'EN est corrélée significativement (*p<0,05) à une diminution i) du nombre de foci nucléaires contenant 53BP1, et ii) à une augmentation de marques de méthylation H3K9me2,3 et ce, très significativement dans deux lignées de patients. Ces premiers résultats indiquent que l'absence de contraintes physiques sur cellules isolées en migration, est associée à une diminution d'expression des protéines de l'EN, une perte de méthylation des Histones H3 (Lys9) et donc une levée de la répression transcriptionnelle, mais aussi de la mise en place de systèmes de réparation des cassures ADN.

Actuellement, nous développons i) la culture d'organoïdes de GB obtenus à partir d'échantillons frais de GB (cœur tumoral vs périphérie) dans le but de maintenir l'hétérogénéité cellulaire de la tumeur et pour étudier le rôle du microenvironnement sur la stabilité de l'EN, ii) la migration de cellules de GB au sein de systèmes/chambres microfluidiques mimant les contraintes physiques en collaboration, et iii) la migration dans des matrices (HCS Pharma, Lille) pour tester l'impact sur les cellules de GB de différents modules d'élasticité en culture 3D, afin de mimer différentes contraintes au cours de la migration.

Conclusion : Notre objectif est d'obtenir de nouvelles informations sur le lien entre contraintes physiques, les protéines de l'EN et la régulation génétique et épigénétique durant la migration des cellules de glioblastomes.

Supporté par la Ligue contre le cancer Normandie, la Fondation ARC, le Géluc, la Région Normandie, l'Université de Rouen Normandie et l'Inserm.

Mots clés : Glioblastome, contraintes physiques, instabilité génétique, enveloppe nucléaire, réparation de l'ADN



Poster

40) Evaluation préclinique de l'influence d'anesthésiques intraveineux sur les cellules de glioblastome et l'efficacité des traitements par chimio- et radiothérapie.

Kelly MONTHE-SAGAN^{1,2}, Omar TOUZANI¹, Jérôme TOUTAIN¹, Jean-Luc HANOUS², Myriam BERNAUDIN¹, Elodie PÉRÈS¹

¹ Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/CERVOxy group, GIP Cyceron, 14000 Caen, France

² Département Anesthésie-Réanimation, CHU de Caen, 14000 Caen, France

Introduction : Les glioblastomes (GB) sont les tumeurs cérébrales primitives les plus agressives et les plus fréquentes de l'adulte. L'évolution de cette pathologie est rapide et fatale. La prise en charge thérapeutique associe la chirurgie, la radiothérapie (RT) et la chimiothérapie (CT). La médiane de survie de ces patients reste néanmoins inférieure à 15 mois. Lors de l'exérèse tumorale, les patients sont exposés à des agents anesthésiques intraveineux. A ce jour, l'effet de ces anesthésiques sur la progression tumorale et sur l'efficacité des traitements sont peu connus. L'objectif de ce travail est d'évaluer, dans des modèles précliniques de GB, l'influence du propofol et du rémifentanyl, seuls ou associés, sur les cellules tumorales et sur leur réponse à la CT et à la RT.

Matériels et méthodes : Des cellules de GB (lignée cellulaire de rat C6) ont été exposées à différentes concentrations de propofol (0,1 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 µg/ml) et de rémifentanyl (0,01 ; 0,05 ; 1 ; 3,75 µg/ml). L'impact de ces anesthésiques seuls ou en association sur la survie cellulaire a été évalué par comptage du nombre de cellules marquées avec un intercalant de l'ADN (Hoechst 33342) de 24 à 72 h après traitement et des tests clonogéniques à 7 jours après traitement. Les effets de ces anesthésiques sur la migration cellulaire ont également été étudiés par le test de comblement de blessure à 24 h post-exposition. Pour déterminer si les anesthésiques modifient la réponse aux traitements des GB, les cellules C6 ont été exposées de manière concomitante aux anesthésiques (propofol et/ou rémifentanyl) et à la CT (témozolomide, TMZ : 350 µM) ou à la RT par rayons X (4 Gy, 2Gy/min, irradiateur X-RAD225 Cx, CYCERON). Des tests clonogéniques ont été réalisés pour quantifier la survie cellulaire 7 jours post-CT ou post-RT.

Résultats : A 72h post-exposition, le propofol à 50 µg/ml (N=3) tend à diminuer de 20 % le nombre de cellules C6 par comparaison à la condition contrôle (N=3, p=0,08). Le rémifentanyl seul et l'association propofol/rémifentanyl n'ont pas modifié la survie cellulaire. De plus, quel que soit l'anesthésique étudié aucun effet n'a été observé sur la migration cellulaire.

En présence de propofol (50 µg/ml), la survie cellulaire était inférieure à celle du TMZ seul (TMZ = 44±18 % vs TMZ+propofol = 17±21 %, p<0,001). Le rémifentanyl (3,75 µg/ml) ou l'association propofol/rémifentanyl n'a pas modifié la réponse des cellules C6 au TMZ (TMZ = 44±18 % vs TMZ+rémifentanyl = 45±14 %, p=0,98 vs TMZ+propofol, rémifentanyl = 33±20 %, p=0,54).

La RT seule a réduit la survie cellulaire. Les effets de la RT sur la survie cellulaire étaient potentialisés en présence de propofol à 50 µg/ml (RT = 60±19 % vs RT+propofol = 29±10 %, p<0,01). Le rémifentanyl à 3,75 µg/ml n'a pas modifié les effets de la RT (RT+rémifentanyl = 61±10 %, p=0,96 vs RT seule). En présence de l'association propofol/rémifentanyl, la survie cellulaire après RT était diminuée (RT+propofol/rémifentanyl = 35 ±16 %, p<0,05 vs RT seule).

Conclusions : Ces premiers travaux réalisés in vitro sur une lignée de GB soulignent que le propofol tend à réduire la survie cellulaire. De façon très intéressante, ces travaux montrent un effet radiosensibilisant du propofol sur ces cellules. Ces résultats sont en cours de confirmation in vitro sur d'autres lignées de GB mais également in vivo dans un modèle orthotopique de GB.

Remerciements :

CNRS, UNICAEN, Archade, ANR-10-EQPX1401, Région Normandie et Etat dans le cadre du CPIER « Vallée de la Seine » 2015-2020 (HABIONOR), la Fédération pour la Recherche sur le Cerveau par l'opération Rotary «Espoir en tête »

Mots clés : Glioblastome, Anesthésie, Propofol, Rémifentanyl, Radiothérapie, Chimiothérapie



41) La Filamine A est associée au caractère invasif et à l'agressivité des glioblastomes.

Alexandre MUTEL^{1,2}, Kleouforo-Paul DEMBELE^{1,2}, Céline LECOINTRE^{1,2}, Laurence DESRUES^{1,2}, Pierre-Olivier GUICHET^{1,2}, Emanuel LAILLET DE MONTULLÉ^{1,2}, Laurent MOUCHARD³, Olivier LANGLOIS⁴, Annie LAQUERRIÈRE⁵, Florent MARGUET⁵, Pierrick GANDOLFO^{1,2}, Fabrice MORIN^{1,2}, Hélène CASTEL^{1,2}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000 Rouen, France

² Institut pour la Recherche et l'Innovation en Biomédecine (IRIB), 76000 Rouen, France

³ EA 4108, Laboratoire d'Informatique, du Traitement de l'Information et des Systèmes (LITIS)

⁴ Département de Neurochirurgie, CHU de Rouen, France

⁵ Département d'Anatomocytopathologie, CHU de Rouen, France

La Filamine A (FlnA) est une protéine plateforme d'ancrage à l'actine largement exprimée lors du développement. Des études récentes ont mis en évidence le rôle clé de la FlnA dans la progression de nombreux cancers. En effet, la FlnA contrôle directement le remaniement du cytosquelette, l'activité et le trafic de facteurs de transcription et de récepteurs membranaires parmi lesquelles on trouve un grand nombre de Récepteurs Couplés aux Protéines G (RCPGs). La surexpression de FlnA dans un contexte tumoral est souvent un facteur de mauvais pronostic. En effet l'expression de la FlnA augmente la proportion de métastase dans les tumeurs d'origine pulmonaire et mammaire ainsi que dans les mélanomes. Notre équipe a précédemment démontré que le peptide Urotensine-II (Ull) ainsi que son récepteur UT sont systématiquement exprimés dans les glioblastomes (GB) humains stimulant l'infiltration du parenchyme cérébral sain par chimiotactisme. Un criblage par double-hybride d'une banque d'ADNc de cerveau humain nous a permis d'identifier la FlnA comme partenaire du fragment cytosolique C-terminal du récepteur UT, suggérant une potentielle implication de la FlnA dans la régulation de l'activité du récepteur. L'analyse d'exérèses chirurgicales de patients (CHU de Rouen) a permis de corréler les niveaux d'expression de FlnA au grade ainsi qu'à la malignité des gliomes, les niveaux de FlnA étant les plus élevés dans les gliomes IDH non mutés. Le tissu sain cérébral montre la présence de FlnA restreinte à l'endothélium, alors qu'un marquage sous forme vésiculée vasculaire et dans les astrocytes réactifs tumoraux est détecté dans les gliomes de bas grades. Dans les gliomes de haut grade (GB) la FlnA est très exprimée dans les cellules tumorales en zones peri-nécrotique caractéristique des GB. Une étude des niveaux d'ARNm codant la FlnA à partir des données du The Cancer Genome Atlas (TCGA) corrobore ces résultats. Ces niveaux élevés de FlnA sont corrélés à un mauvais pronostic de survie. Les patients sur-exprimant la FlnA montrent également une récurrence plus précoce. L'analyse de la base de données IvyGap montre que la FlnA est significativement surexprimée dans les zones périnécrotiques et hypoxiques de 270 patients. Ces données suggèrent que la ré-expression de la FlnA est associée au grade et au degré d'agressivité et de récurrence des gliomes. La chimiokine Ull stimule via l'activation de l'UT, la migration chimiotactique, un effet inhibé par la transfection d'ARN interférent dirigé contre la FlnA dans la lignée de GB 8MG. La transfection d'un vecteur codant le fragment C-terminal du récepteur UT contenant la séquence d'interaction à la FlnA, est également capable d'inhiber la migration chimiotactique évoquée par l'Ull (10-8 M). Des résultats similaires sont constatés lors de l'ajout de peptidomimétiques interagissant et perméant originaux élaborés par notre équipe et bloquant la migration des cellules de GB. Dans la lignée de GB U87, l'Ull entraîne également la migration chimiotactique et la formation dynamique de points focaux d'adhésion. Lorsque l'expression de la FlnA est génétiquement altérée par la technologie CRISPR/Cas9 (U87-KOF) la migration chimiotactique est significativement inhibée comparativement à la lignée de U87 contrôle, avec réduction de 51% de la vitesse de migration, ces cellules ne produisant plus de lamellipode. De longues extensions membranaires, non adhérentes, sont détectées, associées à une altération du cytosquelette d'actine (marquage phalloïdine-rodhamine) ainsi qu'à une diminution du nombre de points focaux d'adhésion, indispensables à la migration. L'absence de FlnA dans les cellules U87-KOF sensibilise les lignées de GB aux Témazolomide et d'Irinotecan, deux chimiothérapies utilisées dans le traitement des GB. In vivo des injections intrastriales de lignées U87 et U87-KOF chez les souris Nude, conduit à une médiane de survie des animaux de 45 jours (U87) et 56 jours (U87-KOF), un résultat significatif ($P < 0,01$) associé à une inhibition de l'invasion, de l'hypoxie, de la sécrétion de MMP9, et à une augmentation de l'effet de masse cérébral qui peut être traitée par Temolozomide. En conclusion, ces résultats suggèrent que la FlnA joue un rôle clé dans le switch invasif des gliomes de haut grade, semble responsable de la récurrence tumorale et peut être ciblée par des ligands thérapeutiques.

Soutenu par la Ligue Normandie contre le Cancer, Géfluc, Inserm Transfert, Université de Rouen Normandie, Inserm.

Mots clés : Glioblastome, Filamine A, Urotensine II, Invasion



Poster

42) Traitement du cancer de la prostate de nouvelle génération : l'Enzalutamide comparée à l'acétate d'abiraterone/prednisone impacte la motivation pour l'exploration, l'apprentissage spatial et modifie la transmission dopaminergique chez des souris castrées âgées.

Celeste NICOLA^{1,2}, Martine DUBOIS^{1,2}, Cynthia CAMPART^{1,2}, Tareq AL SAGHEER¹, Laurence DESRUES^{1,2}, Damien SCHAPMAN³, Ludovic GALAS³, Marie LANGE^{2,4,5}, Florence JOLY^{2,4,5,6}, Hélène CASTEL^{1,2}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000 Rouen, France, Institute for Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), 76000 Rouen, France

² Cancer and cognition Platform, Ligue Nationale contre le Cancer, 14000 Caen, France

³ Normandie University, UNIROUEN, INSERM, PRIMACEN, Rouen, France.

⁴ Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France

⁵ Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

⁶ University Hospital of Caen, 14000 Caen, France

Contexte : Les effets secondaires cognitifs après un traitement anticancéreux altèrent la qualité de vie (QdV) et constituent un défi majeur en oncologie. Le cancer de la prostate (CP) est le cancer le plus fréquent chez les hommes âgés. Les patients traités par déprivation androgénique évoluent souvent vers un CP métastatique résistant à la castration (mCRPC), ainsi des traitements de nouvelle génération (NGT) ciblant l'axe de signalisation des androgènes, sont désormais proposés à cette population de patients plus âgés. Parmi ces NGTs, l'acétate d'abiraterone (AA), co-administrée avec la prednisone (P) cible l'activité enzymatique extragonadale et intratumorale du cytochrome P450-17 (CYP17A1) alors que l'enzalutamide (ENZ) empêche la translocation du récepteur des androgènes (AR) vers le noyau et son interaction avec les éléments de la réponse androgénique. Il apparaît que l'ENZ est plus dommageable que l'AAP sur la QdV des patients (Thiery-Vuillemin et al., ESMO Open, 2018), et entraîne une aggravation des symptômes dépressifs par rapport aux patients AAP (Khalaf et al., Eur Urol, 2018). Nous avons développé un modèle animal pour rechercher l'impact de l'AAP et de l'ENZ sur la réactivité émotionnelle, les fonctions cognitives et l'activité spontanée, et étudié les altérations neurobiologiques potentielles.

Méthodes : Des souris C57Bl/6J Rj mâles âgées de 17 mois et castrées ont reçu per os l'AAP (n=16) ou l'ENZ (n=16) ou placebo respectif (n=14), 5 fois par semaine pendant 6 semaines (J0-J39). Sur ce modèle nous avons évalué i) l'activité spontanée à J15 dans le test de l'open-field (OFT), ii) l'anxiété dans les tests du labyrinthe en croix surélevé (J16) et de l'émergence (J17), iii) la dépression dans les tests de suspension par la queue (TST, J18) et de nage forcée (FST, J19), iv) l'apprentissage spatial (J23-26), la mémoire spatiale (J29) et la flexibilité comportementale (J30-33) dans la piscine de Morris (MWM). Par la suite, quatre injections quotidiennes de BrdU ont été réalisées (J36-J39) puis le cerveau et le plasma ont été collectés afin de réaliser les études immunohisto-chimiques (n=4) et les dosages plasmatiques des cytokines par technique ELISA (n=9).

Résultats : Chez les souris castrées âgées, l'exposition à l'ENZ réduit l'activité spontanée et le comportement exploratoire, ainsi que la motivation à l'effort, comme l'indiquent la diminution de l'activité locomotrice et verticale dans l'OFT (*p<0,05), ainsi que l'augmentation de l'immobilité dans l'OFT (*p<0,05) et le TST (*p<0,05), sans différence dans l'immobilité en FST. Les analyses immunohisto-chimiques montrent une expression des AR et du CYP17A1 dans certains neurones des zones CA1, CA3 et DG de l'hippocampe dorsal (dHp), dans les neurones dopaminergiques (TH+) de la zone tegmentale ventrale (VTA) et de la substantia nigra pars compacta (SNpC) projetant vers le striatum (circuit nigrostriatal) et vers l'hippocampe ventral (vHp, circuit méso- limbocortical) respectivement. L'exposition à l'ENZ est associée à une diminution de l'activité dopaminergique de la tyrosine hydroxylase (TH) dans les neurones matures (NeuN+) de la SNpC (*p<0.05) et la VTA (*p<0.05). De plus, une diminution des fibres afférentes dopaminergiques TH+ (*p<0.05) et de l'activité neuronale dopaminergique liée au Phospho-DARPP32 dans le striatum (*p<0.05) et le vHp (*p<0.05), montre l'impact induit par l'ENZ dans les voies dopaminergiques nigrostriatales et méso- limbocorticales. Les traitements ENZ et AAP ne modifient pas de manière substantielle les performances d'apprentissage et de mémoire spatiale, mais l'ENZ entraîne un comportement de thigmotaxie, diminue le score cognitif (MWM, **p<0.005), et réduit l'activité liée à c-fos des neurones NeuN+ dans le dHp (*p<0.05). Les dosages plasmatiques réalisés indiquent que ni l'AAP ni l'ENZ ne modifient les niveaux de 12 cytokines pro- et anti-inflammatoires.

Conclusion : Ces données établissent l'impact délétère de l'ENZ sur l'exploration et l'activité qui pourrait impliquer une voie corticostriale dopaminergique, ainsi qu'une atteinte subtile des fonctions cognitives par l'ENZ et l'AAP chez des mâles âgés castrés impliquant l'Hippocampe. Ces résultats ouvrent la voie à de futures recherches visant à améliorer la prise en charge de QdV des patients atteints de mCRPC.

Mots clés : mCRPC, Enzalutamide, Acétate d'Abiraterone, Souris âgées castrées, comportement.



43) Impact du cancer et des immunothérapies inhibiteurs de check-point sur la réactivité émotionnelle et les fonctions cognitives chez la souris.

Céleste NICOLA^{1,2}, Martine DUBOIS^{1,2}, Martin PEDARD¹, Kleouforo Paul DEMBELE^{1,2}, Laurence DESRUJES^{1,2}, Sahil ADRIOUCH³, Florence JOLY^{2,4,5,6}, Pascal HILBER¹, Olivier WURTZ¹, Hélène CASTEL^{1,2}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, DC2N, 76000 Rouen, France ; Institut pour la Recherche et l'Innovation en Biomédecine (IRIB), 76000 Rouen, France

² Cancer and cognition plateforme

³ Inserm, U905, Institute for Biomedical Research, Rouen University Hospital, Rouen, France

⁴ Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France

⁵ Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

⁶ University Hospital of Caen, 14000 Caen, France

Contexte : Les déficits cognitifs et la fatigue sont souvent décrits chez les patients traités pour un cancer. Les études cliniques rendent difficile la discrimination de l'implication du cancer, des réactions inflammatoires et des thérapies ciblées, dans la survenue des troubles cognitifs. Les immunothérapies, telles que les check-point inhibitors (CKI), ciblent le système immunitaire pour surmonter la tolérance au cancer et stimuler une réponse immunitaire anti-tumorale. Parmi eux, les anticorps monoclonaux ciblant les antigènes exprimés par les lymphocytes T activés, tels que le gène d'activation des lymphocytes 3 (Lag-3) ou la protéine de mort cellulaire programmée-1 (PD-1), sont reconnus comme des approches très prometteuses pour traiter les patients atteints d'un cancer résistant aux autres thérapies actuellement. Bien qu'il ait été démontré que les agents anti-PD-1 réduisent les effets secondaires de haut grade par rapport à la chimiothérapie, des conséquences neurologiques telles que l'encéphalopathie et la méningite ont été récemment décrites chez des patients cancéreux traités par ces immunothérapies (Joly et al., 2020). Nous cherchons à comprendre les signatures plasmatiques, les mécanismes tumoraux et cérébraux, les modifications vasculaires et les réponses neuroinflammatoires qui sous-tendent les changements comportementaux susceptibles d'être observés pendant ou après les traitements d'immunothérapies. Nous proposons que le réseau lymphatique méningé et les structures vasculaires appelées high endothelial venules (HEV), responsables du recrutement et de l'infiltration de cellules inflammatoires dans le système nerveux central, puissent être favorisés dans le contexte du cancer, en absence ou en présence d'un traitement d'immunothérapie.

Méthodes : Avant de tester l'impact des immunothérapies (anti-PD1, anti-PD-L1, ou anti-Lag3) sur le comportement, nous avons évalué le rôle de l'environnement inflammatoire lié au cancer sur ces fonctions. Nous avons injecté (J0) par voie sous-cutanée chez des souris C57Bl/6j mâles âgées de 8 semaines (n=10/condition) des cellules tumorales de mélanome plus (B16F10-Ova, 50×10⁴ cellules/150 µL matrigel) ou moins immunogènes (B16F10, 50×10⁴ cellules/150 µL matrigel). En parallèle, un lysat tumoral issu de ces deux lignées murines (cycles répétitifs de congélation-décongélation) a été injecté à deux reprises (J0, J7) par voie intradermique (n=10, 106/50 µL PBS) afin de définir l'impact de l'effet immunogène propre aux cellules tumorales en l'absence de l'effet de la tumeur. A J4 post-injection tumorale et à J16 après la seconde injection de lysats, nous avons évalué i) la mémoire spatiale à court terme dans le test de reconnaissance d'objet (NOR) ii) l'activité spontanée dans le test de l'open-field (OFT), iii) l'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevé et iv) la dépression dans le test de suspension par la queue (TST). Après deux injections de BrdU (IP), le cerveau, le plasma et les PBMC sont collectés pour de futures analyses.

Résultats : Nos premières données montrent que la présence d'un mélanome faiblement immunogène est associée à des dysfonctions cognitives subtiles (*p<0,05), tandis qu'un mélanome plus immunogène (***p<0,001) ou le lysat correspondant (**p<0,01) sont associés à des troubles cognitifs (NOR, n=9-18/condition) plus marqués. Alors que les souris porteuses de tumeurs B16F10 ou ayant reçu le lysat correspondant ne présentent pas de troubles anxieux ou de signes de dépression, un phénotype plus anxieux et de résignation est observé chez les souris porteuses de tumeurs B16F10-Ova et du lysat correspondant comme l'indique l'augmentation du temps passé dans le bras ouvert dans l'EPM (**p<0,01, n=9-18/condition) et du temps d'immobilité dans le TST (***p<0,001, n=9-18/condition). Pour comprendre ces observations, des analyses immunohistochimiques 2D et 3D du cerveau seront réalisées tandis que le plasma et les PBMC sanguins sont actuellement à l'étude.

Conclusion : Nos observations chez l'animal pourront orienter la recherche de biomarqueurs à partir de ces prélèvements et nous permettront de potentiellement prévenir les conséquences futures à long terme sur la qualité de vie des patients atteints de cancer.

Soutenu par la Région Normandie RIN, les Fonds Européens du Développement Régional (FEDER) Cancer COG, le Cancéropôle Nord-Ouest, la Ligue Nationale contre le Cancer, l'Université de Rouen Normandie, l'Inserm.

Mots clés : immunothérapies, comportement, cancer, immunogénicité, fonctions cognitives



44) Impact des exosomes tumoraux circulants sur les déficits cognitifs et/ou émotionnels associés au cancer mammaire.

Renaud PARMENT^{1,2,3}, Martine DUBOIS^{1,2,3}, Laurence DESRUES^{1,2,3}, Nadira DELHEM⁴, Olivier MORALES⁴, Florence JOLY^{3,5,6,7}, Fabrice MORIN^{1,2}, Pierrick GANDOLFO^{1,2}, Vincent COMPÈRE^{1,2,8}, Hélène CASTEL^{1,2,3}

¹ Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM U1239, DC2N, 76000 Rouen, France

² Institute for Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), 76000 Rouen, France

³ Cancer and cognition Platform, Ligue Nationale contre le Cancer, 14000 Caen, France

⁴ CNRS UMR 8161, Institut de Biologie de Lille, Institut Pasteur de Lille, 59021 Lille, France

⁵ Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France

⁶ Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

⁷ University Hospital of Caen, 14000 Caen, France

⁸ University Hospital of Rouen, 76000 Rouen, France

Contexte : Un nouveau domaine en oncologie vise à mieux comprendre la neurotoxicité induite par le cancer et ses traitements. Des études longitudinales ont montré qu'avant tout traitement, les patients souffrent de déficits cognitifs, suggérant des mécanismes systémiques associés au cancer ou des facteurs circulants de la tumeur elle-même impliqués dans le dysfonctionnement cérébral. Les exosomes libérés par les cellules normales et tumorales permettent une communication intercellulaire pour le transfert d'ARNm, de Mirs et de protéines. Une étude récente a montré que les exosomes provenant de la lignée cellulaire de cancer du sein humain MDA-MB-231 cibleraient les cellules endothéliales du cerveau et seraient associés à une perturbation des jonctions serrées (Tominaga et al. 2015). Le projet vise à établir la capacité des exosomes provenant de lignées cellulaires de cancer du sein murin (E0771) et humain (MDA-MB-231) à interagir avec les cellules neurales et les structures cérébrales, et relayant des modifications des fonctions émotionnelles et/ou cognitives des souris exposées aux exosomes tumoraux.

Méthodes : In-vitro, des cellules souches neurales humaines (CSN), dérivées H9, ou différenciées en neurones, astrocytes ou oligodendrocytes ont été mis en contact avec des exosomes tumoraux MDA-MB-231 (EV-231) (1 µg/100 µl) marqués avec du PKH26 durant 24h pour visualiser le ciblage des cellules neurales par immunocytochimie. In-vivo, des injections intracardiaques d'exosomes EV-231 ou issus de sérum de patients sains (10 µg/100 µl de PBS), marqués au PKH26, ont été réalisées chez les souris Nude pour évaluer la distribution cérébrale des exosomes 24h post-injection. Des xénogreffes orthotopiques de cellules MDA-MB-231 que nous avons infectées à l'aide de particules lentivirales codant la protéine exosomale CD63-GFP, ont été réalisées chez des souris Nude femelles recevant des injections intrapéritonéales de i) PBS, ii) d'anticorps anti-CD63 (1 mg/kg) ou ii) d'un inhibiteur de sécrétion d'exosomes (GW4869, 2,5 µg/g) quand le volume tumoral atteint 10 mm³. En fonction du traitement, les souris ont été évaluées dans des tests comportementaux évaluant l'état anxieux (labyrinthe en croix surélevée), dépressif (suspension par la queue) ou cognitif (reconnaissance d'objets) et des analyses immunohistochimiques des coupes de cerveaux ont été initiées. Une évaluation de la détection des exosomes CD63-GFP dans le plasma des souris a été vérifiée par cytométrie en flux.

Résultats : In-vitro, les EV-231 (CD63/Tsg101+) sont préférentiellement captés par les astrocytes (GFAP/AQP4+) et les cellules souches neurales (CSN, Sox2/Nestin+), qui montrent une augmentation du marquage apoptotique caspase-3 clivée. In-vivo, après une injection intracardiaque d'exosomes tumoraux humains, un marquage CD63/Tsg101+ des exosomes a pu être détecté à proximité de vaisseaux cérébraux (CD31+) et d'astrocytes (GFAP+) dans l'hippocampe. Des souris porteuses de tumeurs mammaires humaines MDA-MB-231 ne présentent pas d'état anxieux ou de déficits attentionnels, mais montrent des signes de résignation (dépression), deux semaines après le début de la croissance tumorale, des comportements associés à la détection d'exosomes CD63-GFP dans le plasma. De manière intéressante, l'administration d'un anticorps anti-CD63 ralentit la croissance tumorale (P=0,03) et atténue le comportement dépressif (P=0,03), deux phénomènes non corrélés à la taille de la tumeur. L'inhibiteur GW4869, dont l'effet inhibiteur sur le relargage d'exosomes a été validé dans des surnageants de culture de la lignée MDA-MB-231 (24h, P<0,001) n'induit pas de diminution de la croissance tumorale, mais engendre une diminution significative du relargage d'exosomes CD63-GFP dans le plasma des souris porteuses de tumeur (P=0,01).

Conclusion : Ces résultats suggèrent pour la première fois que les exosomes tumoraux par voie systémique, sont capables de transférer du matériel protéique aux cellules neurales humaines, au niveau des aires cérébrales hippocampales. La présence d'un cancer mammaire engendre un comportement résigné chez la souris, probablement via une voie dépendante du marqueur exosomal CD63. Ces données ouvrent une voie de compréhension sur le rôle du cancer sur les fonctions émotionnelles, voire cognitives chez les patients atteints de cancer.

Soutenu par : Géfluc, Région Normandie, Cancéropôle Nord-Ouest, Inserm et Université de Normandie

Mots clés : Exosomes, Cancer du sein, Cellules souches, Dépression, Hippocampe



45) Comparaison de la sensibilité des astrocytes murins et humains à différentes modalités d'irradiation.

Nolwenn PASQUET, Elodie PÉRÈS, Jérôme TOUTAIN, Edwige PETIT, Myriam BERNAUDIN, Samuel VALABLE

Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/CERVOxy Group, GIP CYCERON, 14000 Caen, France

La radiothérapie, associée à la chirurgie et à la chimiothérapie, est fréquemment utilisée pour le traitement des tumeurs cérébrales mais présente certaines limites. En effet, l'irradiation par photons entraîne inévitablement des dépôts de dose dans les tissus non tumoraux, engendrant des conséquences néfastes telles que des déficits cognitifs. Les lésions cérébrales radio-induites peuvent être dues à des dommages non seulement sur les neurones mais également au niveau d'autres cellules cérébrales avoisinantes la tumeur comme les astrocytes. Si l'hadronthérapie semble avoir pour principal intérêt d'épargner les tissus sains grâce à ses propriétés balistiques, les effets sur les tissus cérébraux normaux restent à déterminer.

Dans ce contexte, notre étude *in vitro* vise à évaluer la radiosensibilité des astrocytes murins et humains à l'irradiation par photons (rayons X) en comparaison avec l'hadronthérapie (ions carbone et protons).

Des astrocytes murins et des astrocytes humains ont été irradiés à différentes doses (0, 2, 8 Gy) avec des rayons X (Faxitron®) ou des ions carbone (IRABAT D1, GANIL) à un débit de dose de 2 Gy/min.

Après une irradiation aux rayons X, la phosphorylation de l'histone H2AX a mis en évidence des cassures double brin de l'ADN (DNA double strand breaks, DSB) dès 30 min après l'irradiation et jusqu'à 2 h post-irradiation de manière dose-dépendante que ce soit au niveau des astrocytes murins et humains. Ce phénomène disparaît complètement 6 heures après l'irradiation, ce qui reflète une réparation rapide et complète des DSB après une irradiation aux rayons X.

En ce qui concerne les effets des irradiations aux rayons X sur la viabilité/la mort cellulaire (densité cellulaire, prolifération et apoptose), aucun effet n'a été démontré, quels que soient la dose et le type de cellule étudiés. Des expériences similaires réalisées avec des ions carbone sont en cours d'analyse.

Ces résultats suggèrent que les astrocytes sont rapidement affectés par l'irradiation aux photons mais qu'ils ont également une grande capacité à réparer leurs dommages à l'ADN. Il est donc nécessaire d'approfondir nos recherches sur l'état d'activation des astrocytes qui pourrait conduire à des effets neurotoxiques et secondaires. Des expériences comparatives avec des ions carbone et des protons sont en cours pour évaluer l'impact de l'hadronthérapie sur les astrocytes murins et humains. En effet, il est important de s'interroger sur les effets potentiels des ions carbone et des protons sur les cellules cérébrales car ces nouvelles modalités d'irradiation sont d'un intérêt majeur pour le traitement des tumeurs radio-résistantes du cerveau.

CNRS, UNICAEN, Archade, ANR-10-EQPX1401, Région Normandie et l'Etat français dans le cadre du CPIER « Vallée de la Seine » 2015-2020 (projet HABIONOR) ; 2020-22 (projet CHOxTracc).

Mots clés : Astrocytes, Rayons X, Hadronthérapie, Radiorésistance

NOTES



Poster

48) Rythme activité-repos et caractéristiques du sommeil, estimés par actimétrie chez des patientes atteintes d'un cancer du sein : quel impact de l'hormonothérapie ?

Tristan MARTIN ¹, Mylène DUIVON ², Nicolas BESSOT ³, Jean-Michel GRELLARD ^{4,5}, George EMILE ^{4,5}, Sébastien POLVENT ², Lucie RAOUL ², Francis EUSTACHE ², Florence JOLY ^{4,5,6,7,8}, Bénédicte GIFFARD ^{2,8}, Joy PERRIER ²

¹ Le Mans University, Movement - Interactions, Performance, MIP, EA 4334, Faculty of Sciences and Technologies, Avenue Olivier Messiaen, 72000 Le Mans, France.

² Normandie Univ, UNICAEN, PSL Université, EPHE, INSERM, U1077, CHU de Caen, GIP Cyceron, Neuropsychologie et Imagerie de la Mémoire Humaine, 14000 Caen, France

³ UNICAEN, INSERM, COMETE, GIP CYCERON, Normandie University, Caen, France

⁴ Departments of Clinical Research Unit and Medical Oncology, Caen, France

⁵ Institut Normand du Sein, Centre François Baclesse, Caen, France

⁶ CHU Côte de Nacre, Caen, France

⁷ INSERM, Normandie Univ, UNICAEN, U1086 ANTICIPE, Caen, France

⁸ Cancer and Cognition Platform, Ligue Nationale Contre le Cancer, 14076, Caen, France

Introduction : Des perturbations du rythme activité-repos (RAR) ont été observées avant et suite au traitement par chimiothérapie pour un cancer du sein, avec une amplitude du RAR diminuée (différence entre le niveau d'activité maximal et minimal) et un mesor plus faible (moyenne ajustée au rythme circadien de l'activité quotidienne). Ces modifications peuvent accompagner d'une diminution de la qualité du sommeil pendant la chimiothérapie. En revanche, les modifications du sommeil et du RAR n'ont été étudié dans aucune étude chez des personnes atteintes d'un cancer du sein traitée par hormonothérapie, alors que ce traitement est très fréquemment prescrit.

Objectifs : Cette étude vise à caractériser les paramètres RAR et de sommeil issus de l'actimétrie chez des patientes avec un cancer du sein sous hormonothérapie (HT+) ou non traitées par hormonothérapie (HT-) par rapport à un groupe de volontaires sains (VS) appariées en âge et en niveau d'éducation. Nous avons également cherché à évaluer la relation entre le RAR et des paramètres du sommeil avec la qualité de vie (bien-être, fatigue, dépression, anxiété, troubles du sommeil perçus).

Méthodes : Dix-huit HT+, 18 HT- (aucune patiente ne recevant de chimiothérapie) et 16 VS ont rempli des questionnaires d'auto-évaluation et ont porté un actimètre au poignet pendant deux semaines. La méthode paramétrique du Cosinor permet d'estimer l'acrophase du RAR (heure à laquelle le pic se produit, renseignant sur son placement dans le temps), son amplitude (différence entre le pic et le creux, signe important de bonne santé), et son mesor (le niveau moyen du rythme). L'analyse non paramétrique a permis de calculer la variabilité et la stabilité du rythme, ainsi que la quantité de mouvement durant les périodes d'éveils et de sommeil. Les paramètres de qualité et de quantité du sommeil et la qualité de vie ont été comparés entre les groupes ($p < 0.05$). Les paramètres dérivés de l'actimétrie ont été corrélés aux variables liées à la qualité de vie ($p < 0.01$).

Résultats : Les analyses du RAR montrent que les groupes HT+ et HT- présentent une activité diurne inférieure aux VS. Les patientes HT+ et HT- ont également une amplitude du RAR plus faible que les VS. De plus, la stabilité du RAR est plus faible chez les patientes HT- que chez les VS. Les patientes HT+ présentent des plaintes de sommeil plus importantes que les VS, ces plaintes sont associées à un temps passé au lit plus long et à un sentiment de bien-être moindre. Le groupe HT+ présente une efficacité de sommeil plus faible que le groupe HT-, ainsi qu'un temps de réveil plus long et un niveau d'activité plus élevé la nuit.

Discussion : Nos résultats suggèrent un effet du cancer sur le RAR indépendamment du traitement, et confirment les résultats précédents faisant état d'une altération significative de la rythmicité biologique chez des personnes atteintes d'un cancer. En revanche, les altérations du sommeil ne semblent présentes qu'après un traitement par hormonothérapie pour un cancer du sein. De ce fait, la présence de trouble du RAR pourrait avoir des répercussions différentes sur le sommeil chez les patientes traitées par hormonothérapie, entraînant ainsi des conséquences délétères supplémentaires sur la qualité de vie des patientes.

Mots clés : Cancer du sein, hormonothérapie, Actimétrie, rythme activité-repos, sommeil, Cosinor, NP-CRA, Fatigue liée au cancer



49) Qualité et quantité de sommeil des patientes traitées par hormonothérapie pour un cancer du sein : étude de la macro- et de la microstructure du sommeil.

Joy PERRIER¹, Mylène DUIVON¹, Patrice CLOCHON¹, Jean-Michel GRELLARD^{2,3}, Carine SEGURA-DJEZZAR^{2,3}, Julien GEFFRELOT^{2,3}, Georges EMILE^{2,3}, Djelila ALLOUACHE^{2,3}, Christelle LEVY^{2,3}, Sébastien POLVENT¹, Fausto VIADER¹, Francis EUSTACHE¹, Florence JOLY^{2,3,4,5,6}, Bénédicte GIFFARD^{1,6}

¹ Normandie Univ, UNICAEN, PSL Université, EPHE, INSERM, U1077, CHU de Caen, GIP Cyceron, Neuropsychologie et Imagerie de la Mémoire Humaine, 14000 Caen, France

² Departments of Clinical Research Unit and Medical Oncology, Caen, France

³ Institut Normand du Sein, Centre François Baclesse, Caen, France

⁴ CHU Côte de Nacre, Caen, France

⁵ INSERM, Normandie Univ, UNICAEN, U1086 ANTICIPE, Caen, France

⁶ Cancer and Cognition Platform, Ligue Nationale Contre le Cancer, 14076, Caen, France

Les patientes atteintes d'un cancer du sein se plaignent fréquemment de troubles du sommeil et de fatigue. Si certains traitements comme la chimiothérapie sont mis en cause, aucune information n'est disponible quant aux modifications de l'architecture du sommeil après hormonothérapie. Le sommeil peut être étudié en termes de macrostructure (ex : stades du sommeil) ou de microstructure (i.e. activité corticale), l'association de ces deux niveaux d'analyse permettant de mieux comprendre les modifications physiopathologiques associées au cancer du sein.

Notre objectif principal était de caractériser la macro- et la micro-structure du sommeil chez 17 patientes traitées par anti-aromatase (H+) et 16 patientes non traitées par HT (H-) par rapport à 21 volontaires sans antécédents de cancer (VS). Un objectif secondaire était de relier ces modifications de sommeil à la fatigue liée au cancer.

Le sommeil a été enregistré par polysomnographie qui est un enregistrement multimodal (électroencéphalographie, électromyographie, activité cardiaque et oculaire) et des questionnaires ont été utilisés afin de renseigner sur la plainte de sommeil et sur la plainte de fatigue liée au cancer. Les données issues de la polysomnographie ont été analysées afin d'extraire la macro- et la microstructure du sommeil. La macrostructure fait référence à la qualité de sommeil ainsi qu'à la quantité et à la latence de chaque stade (stades 1, 2, 3 et sommeil paradoxal). La microstructure permet, grâce à une transformation mathématique de Fourier, d'extraire la puissance spectrale dans les bandes de fréquence (delta, theta, alpha, sigma, et beta). Ces paramètres sont en lien avec l'activité corticale et renseignent sur la profondeur du sommeil (bande Delta), les rêves et les émotions qui y sont associés (bande Thêta), la fragilité du sommeil (bande Alpha) ou l'éveil cortical (bande Beta). Les données de sommeil (polysomnographie et questionnaires) et les scores de fatigue ont été comparés entre les trois groupes et des corrélations ont été réalisées entre les paramètres de sommeil et les scores de fatigue ($p < 0.05$).

Les données obtenues aux questionnaires de sommeil ont montré que les patientes H+ rapportaient plus de difficultés de sommeil que les VS. Les résultats de la macrostructure ont révélé un temps plus long passé en sommeil léger avant l'endormissement effectif (premier stade 2) chez les H+ par rapport aux H-, ainsi qu'un plus grand nombre de réveils chez les H- par rapport aux VS mais non par rapport aux H+. Par rapport aux VS, les deux groupes de patientes avaient une puissance spectrale dans la bande Delta plus faible, celle-ci est liée à la profondeur du sommeil lent et à l'homéostasie du sommeil, et une puissance spectrale dans la bande Beta plus importante, celle-ci étant liée à l'éveil cortical. Par rapport au groupe VS, le groupe H+ avait une puissance spectrale dans la bande Thêta plus faible, qui est représentative des émotions et des rêves, et le groupe H- présentait une puissance spectrale dans la bande Alpha plus élevée, qui est associée à un sommeil non réparateur. Les scores de fatigue n'étant pas différents entre les deux groupes de patientes, les corrélations ont été réalisées chez ces deux groupes de façon conjointe. Les résultats ont montré des corrélations négatives entre la plainte de fatigue et 1) la plainte de sommeil, 2) le temps passé en sommeil léger avant endormissement effectif et 3) la puissance spectrale dans la bande Beta. Ces corrélations perduraient en tenant compte des facteurs anxio-dépressifs.

Nos résultats révèlent des modifications spécifiques du sommeil chez les patientes traitées par hormonothérapie avec plus de difficultés à rentrer dans un sommeil stable (plus de temps passé en stade léger avant endormissement effectif) et une activité corticale liée aux rêves et aux émotions plus faible, en accord avec les plaintes de sommeil rapportées par ces patientes. Cependant, l'homéostasie du sommeil semble perturbée chez les patientes, traitées ou non par hormonothérapie, avec un sommeil moins profond et une plus grande quantité d'éveil cortical. Nos résultats confirment également un lien entre les perturbations du sommeil et la fatigue liée au cancer, et suggèrent qu'un éveil cortical plus important pourrait induire une sensation de fatigue plus importante chez les patientes.

Mots clés : Cancer du sein, sommeil, hormonothérapie, insomnie, homéostasie du sommeil, fatigue liée au cancer



Poster

50) Recherche d'une interaction fonctionnelle entre le récepteur AT1 de l'angiotensine II et le récepteur UT de l'urotensine II : impact potentiel dans la gliomagenèse.

Lucie PREVOST^{1,2}, Laurence DESRUES^{1,2}, Kléouforo-Paul DEMBÉLÉ^{1,2}, Lucie MARTIN^{1,2}, Daniele CAMPISI^{1,2}, Fabrice MORIN^{1,2}, Hélène CASTEL^{1,2}, Pierrick GANDOLFO^{1,2}

¹ Inserm U1239, équipe Astrocytes et Niche vasculaire, Université de Rouen Normandie

² IRIB, Institute for Research and Innovation in Biomedicine

Les glioblastomes (GBM) sont des tumeurs cérébrales d'origine gliale particulièrement agressives, avec une médiane de survie post-traitement de 15 mois seulement. A ce jour, il n'existe aucune thérapie efficace contre ces tumeurs, justifiant la recherche de nouvelles stratégies. Parmi les cibles potentielles figurent les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) dont certains, surexprimés dans ces tumeurs, présentent des voies de signalisation impliquées dans des processus clés de la tumorigenèse, e.g. invasion, angiogenèse.

Des travaux menés dans l'équipe « Astrocytes et Niche Vasculaire » (Inserm U1239) ont démontré que le neuropeptide vasoactif urotensine II (UII) et son récepteur UT sont surexprimés dans des échantillons de gliomes de patients, en particulier au niveau des zones vasculaires et péri-nécrotiques, avec une corrélation avec le grade des tumeurs. Le couple UII/UT stimule l'invasion chimiotactique des cellules gliomales par les voies de couplage de types $G\alpha_{13}$ et $G\alpha_i$. L'UII favorise la tumorigenèse gliale via une angiogenèse anormale, suggérant un rôle clé du neuropeptide et du couplage de l'UT dans le contrôle de la néoangiogenèse intra- et péri-tumorales, et dans la modulation de la prolifération/migration/invasion cellulaire des astrocytes et des cellules endothéliales. Plusieurs groupes ont démontré que le système angiotensinergique contribuerait aussi à la tumorigenèse gliale et une étude pilote, menée au sein de l'équipe, a montré que la coadministration intratumorale de losartan (antagoniste du récepteur AT1 de l'angiotensine II) et d'urantide (ligand biaisé de l'UT) dans des xénogreffes de cellules U87 (issues d'un GBM) portées par des souris immunodéprimées, freine de façon synergique la croissance tumorale et augmente de façon corollaire la survie des animaux.

Certains RCPG sont connus pour former des homo- et/ou hétérodimères possédant des propriétés pharmacologiques et fonctionnelles différentes de celles des monomères. Ces hétérodimères constituent des cibles thérapeutiques potentielles, notamment en neurooncologie. Le but de cette étude est de rechercher l'existence d'une interaction fonctionnelle entre les récepteurs AT1 et UT, et qui serait impliquée dans les mécanismes de gliomagenèse.

Des mesures de variations de la concentration cytosolique de calcium (voie de signalisation commune pour AT1 et UT) dans des cellules HEK-293 exprimant des formes étiquetées d'AT1 (AT1^{HA}) et d'UT (UT^{cMyc}) ont montré que les deux récepteurs modifiés conservent une affinité nanomolaire pour leur ligand respectif. La coexpression AT1^{HA}/UT^{cMyc} n'impacte ni la puissance ni l'efficacité de l'UII. En revanche, l'efficacité de l'AngII est significativement réduite (-40 %). L'incubation des cellules avec l'UII (10^{-11} , 10^{-9} , 10^{-7} M ; 1h) provoque une diminution dose-dépendante (-60 % à 10^{-7} M) de la mobilisation calcique induite par l'AngII. Des résultats similaires ont été observés avec divers ligands du système urotensinergique dont le paralogue de l'UII (urotensin-related peptide, URP) et des ligands biaisés ([Orn⁸]UII, [Orn⁵]URP). A l'inverse, l'AngII (10^{-11} , 10^{-9} , 10^{-7} M ; 1h) ne modifie pas l'effet stimulant de l'UII sur la signalisation calcique relayée par l'UT. Des études de liaison réalisées sur des cellules HEK-293 coexprimant AT1^{HA} et UT^{cMyc} suggèrent que l'UII (10^{-7} M, 1h) diminue la densité d'UT^{cMyc} et d'AT1^{HA} présents à la surface des cellules.

Ces données plaident en faveur de l'existence d'une interaction fonctionnelle entre les deux récepteurs, impliquant au moins le processus d'internalisation. Des études d'immunocytochimie et de migration cellulaire sont en cours, à la fois sur des cellules HEK-293 coexprimant AT1/UT, et sur des lignées gliomales humaines exprimant les deux RCPG. Ces travaux permettront de mesurer l'impact de l'interaction UT/AT1 dans des processus clés de la tumorigenèse gliale.

Soutenu par : Université de Rouen Normandie, Inserm, Gefluc

Mots clés : RCPG, glioblastomes, angiotensine II, urotensine II, hétérodimérisation



53) Rôle de la mutation H3.3K27M dans le phénotype agressif et résistant des cellules de gliomes diffus du tronc cérébral.

Andria RAKOTOMALALA ^{1,2}, Quentin BAILLEUL ^{1,2}, Mélanie ARCICASA ^{1,2}, Pierre LEBLOND ³, Alessandro FURLAN ^{1,2}, Samuel MEIGNAN ^{1,2}

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Unité tumorigénèse et résistance aux traitements, Centre Oscar Lambret, F-59000 Lille, France

³ Département de cancérologie pédiatrique, Institut d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, Lyon, France

De nos jours, on estime qu'un enfant sur 440 sera atteint d'un cancer avant l'âge de 15 ans et l'incidence des tumeurs cérébrales pédiatriques est en constante hausse (INCa, 2015). Malgré un taux de survie à 5 ans de 75% pour l'ensemble des tumeurs cérébrales pédiatriques, les gliomes diffus du tronc cérébral (ou DIPG) sont particulièrement résistants aux traitements et restent de très mauvais pronostic, avec un taux de survie à 5 ans de moins de 1%. La caractéristique principale des DIPG est une mutation mono-allélique de l'histone H3, qui consiste en la substitution du résidu lysine 27 par une méthionine (H3K27M) et qui perturbe le paysage épigénétique des cellules de DIPG dans sa globalité. Cette mutation s'observe majoritairement sur le variant H3.3 (H3.3K27M) et corrèle, dans ce cas, avec le pronostic le plus péjoratif. Néanmoins, le rôle potentiel de la mutation H3.3K27M dans la résistance aux traitements et le caractère agressif de ces tumeurs demeure indéfini.

Afin d'étudier finement le rôle de la mutation H3.3K27M dans la biologie des cellules de DIPG, nous avons développé une stratégie de *gene editing*, basée sur l'utilisation combinée de la technologie CRISPR/Cas9 et d'un insert de recombinaison. Cette stratégie vise à établir des modèles cellulaires originaux de réversion de la mutation dans trois lignées cellulaires de DIPG initialement mutées H3.3K27M. A ce jour, j'ai établi ces modèles de réversion inédits dans les lignées HSJD-DIPG-12 et HSJD-DIPG-013. En comparant ces modèles de réversion aux cellules parentales mutées, nous escomptons définir précisément le rôle de la mutation dans divers effets biologiques associés au caractère agressif. L'aspect infiltrant des DIPG constituant un frein majeur à leur exérèse chirurgicale, leur capacité d'invasion est à l'étude par des tests en 3 dimensions en Matrigel. D'autre part, étant donné les liens entre métabolisme cellulaire et résistance aux traitements, une attention particulière est portée sur les changements métaboliques associés à la mutation, et ce par l'analyse du profil métabolique de gliosphères, issues de nos modèles et des lignées parentales, à l'aide de la technologie *XF Seahorse* (Agilent). À cet effet, un *workflow*, permettant d'analyser le métabolisme de gliosphères et d'appréhender la question de l'impact de la mutation sur le métabolisme énergétique, a été mis en place. Concernant la résistance aux traitements, la détermination de fractions de survie, par des tests de clonogénicité après irradiation de nos modèles cellulaires à des doses croissantes, nous permettra d'évaluer l'impact de la mutation sur la réponse à la radiothérapie. Aussi, le screening d'une banque de drogues, élaborée à façon, et la détermination d'IC50 sur nos modèles permettront de déterminer quelle(s) famille(s) d'agents anticancéreux voient leur efficacité impactée par la mutation et d'identifier des acteurs moléculaires et voies de signalisation associées à la mutation. En complément, des études de *RNA-seq* (transcriptomique) et de *CUT&RUN* (épigénomique), dont l'analyse sera guidée par les effets biologiques observés, permettront d'appréhender les déterminants moléculaires responsables de ces effets biologiques associés à la mutation.

En résumé, la caractérisation comparative de nos modèles cellulaires de réversion de la mutation H3.3K27M, obtenus dans les lignées HSJD-DIPG-012 et -013, nous permettra de déterminer si, outre son rôle dans la tumorigénèse, cette mutation participe au caractère agressif et résistant de ces tumeurs et, ainsi, de savoir si les mécanismes associés présentent un intérêt thérapeutique.

Mots clés : DIPG, H3.3K27M, gliome, pédiatrie, épigénétique, modèles cellulaires, résistance aux traitements



3) Faisabilité d'activité physique adaptée avec plateforme de marche chez les patients âgés hospitalisés pour cancer : étude pilote.

Bérengère BEAUPLÉ^{1,2,3}, Heidi SOLEMLAVIEC^{2,4}, Florian BOISMAIN², Jean Michel GRELLARD⁴, Benedicte CLARISSE⁴, Priscille LE BON^{2,4}, Antoine DESVERGEE³, Justine LEQUESNE⁴

¹ Inserm ANTICIPE

² UCOGIR Normandie

³ CHU de Caen

⁴ CLCC Baclesse

Introduction : En cancérologie, l'Activité Physique Adaptée (APA) est recommandée pour réduire la fatigue, les complications postopératoires et améliorer la qualité de vie. A l'hôpital, les conditions sont peu favorables à l'entretien de la marche, alors qu'avec l'âge l'alitement prolongé peut favoriser la désadaptation posturale, et augmenter le risque de chute. La plateforme ema[®] utilisée est sécurisée et adaptée (harnais de sécurité, verticalisation automatisée, parcours de marche visualisé sur une tablette tactile, jeux de stimulation cognitive et proprioceptive, tapis de marche connecté permettant le suivi et l'analyse de la marche). L'objectif est d'évaluer la faisabilité de la pratique de la marche pendant une hospitalisation pour cancer, avec une plateforme de marche.

Méthodes : L'étude APPAHOCA était prospective bicentrique (CHU et CLCC de Caen), menée de mai à octobre 2018, après obtention des autorisations (RIPH catégorie 2 n°ID-RCB: 2018-A00031-54). Ont été inclus des patients de 70 ans et plus, hospitalisés au moins 48hs pour cancer en unité MCO, pour lesquels la marche est autorisée. N'étaient pas éligibles les patients grabataires depuis plus d'un mois ou en phase terminale de soins palliatifs. Une séance de marche de 6 à 30 minutes était proposée quotidiennement, assisté d'un enseignant en APA. Pour le critère principal : la faisabilité était considérée satisfaisante si 70% des patients inclus réalisaient au moins 2 séances de 6 minutes.

Résultats : 45 patients ont été inclus sur une période de 3 mois, d'un âge moyen de 76 ans, dont 23 femmes. 19 patients avaient un ECOG Performance Status à 0-1 ; 19 un PS 2, 6 un PS 3. Seulement 7 avaient un antécédent de chute. Les motifs d'hospitalisation étaient divers : bilan d'extension, soins de support, chirurgie programmée ou non, cure de traitement oncologique, complications de traitement. Leur durée moyenne de séjour était de 11 jours. 28 patients étaient porteurs de matériel de soins (perfusion, drain, oxygénothérapie, stomie ou sonde). 25 étaient sous antalgiques, dont 14 avec douleur persistante avant la 1ère séance, qui ne s'est pas majorée pendant la séance. 26 patients ont réalisé 2 séances d'au moins 6 minutes (4 ont réalisé une seule séance). Les données collectées (type de cancer, douleur, statut nutritionnel, comorbidités, statut cognitif, antécédent de chute et niveau d'activité physique antérieur) ont permis d'identifier que le poids et l'IMC (25,75 vs 21,3 dans le sous-groupe avec une seule séance, $p=0,049$) étaient associés à la réalisation de 2 séances.

Conclusion : Le nombre de sujets inclus était inférieur au nombre attendu (au moins 60 patients). Les patients robustes refusaient de participer trouvant le harnais stigmatisant (norme CE obtenue a posteriori pour l'utilisation sans harnais). Il est difficile de convaincre les patients de participer devant l'aspect facultatif des séances. Il faut lutter contre le préjugé de devoir se reposer quand on est malade, et la crainte de réactiver des douleurs. L'état médical instable à l'hôpital aggrave la fatigue, limitant (hypoglycémies, hypotensions, iatrogénie, anémie). Nombre et durée des séances inférieure à l'attendu: aucun effet secondaire n'a été relevé suite aux séances, n'augmente pas la douleur. Certains patients ont, après inclusion, présenté une contre-indication médicale à la marche, ou sont sortis précocement de l'hôpital, ne permettant pas de réaliser une 2e séance. Cette plateforme de marche serait peut-être plus utile en SSR, en EHPAD-USLD, ou en réhabilitation opératoire.

Mots clés : *aged, neoplasms, sarcopenia, inpatients, walk test, walking speed, rehabilitation research*



20) Dommages à l'ADN dans les lymphocytes de travailleuses agricoles par le test des comètes.

Poppy EVENDEN ^{1,2}, Yannick LECLUSE ^{1,2,3}, Anne-Sophie LACAUVE ^{1,2,3}, Elodie NIEZ ^{1,2,3}, Stéphanie PERRIER ^{1,2,3}, Hervé PERDRY ⁴, Elisa BOUTET-ROBINET ⁵, Séverine TUAL ^{1,2,3}, Mathilde BOULANGER ^{1,2,3}, Raphaël DELÉPÉE ^{1,2,3}, Pierre LEBAILLY ^{1,2,3}, Matthieu MERYET-FIGUIÈRE ^{1,2,3}

¹ Inserm U1086, ANTICIPE

² Université de Caen Normandie

³ Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse

⁴ Univ Paris-Saclay & INSERM CESP, Villejuif

⁵ Toxalim, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse

Objectifs : De nombreuses études ont démontré l'existence d'une relation entre l'exposition aux pesticides et un taux accru de dommages à l'ADN. Cependant, les études longitudinales sont rares et l'association entre les dommages à l'ADN mesurés par les tests des comètes et le développement de cancers est encore méconnue. Ainsi, le but de notre étude est de i) quantifier les dommages à l'ADN de femmes incluses dans une cohorte agricole française à deux points temporels, ii) étudier la relation entre les dommages et les activités agricoles et iii) explorer le lien entre le taux de dommages à l'ADN et la survenue ultérieure de cancers.

Méthodes : 320 travailleuses agricoles d'un échantillon d'exploitations agricoles sélectionnées aléatoirement dans le département du Calvados ont été incluses dans l'étude de 1997 à 2000 et ont complété un questionnaire en face-à-face. Parmi elles, 245 femmes ont donné un échantillon sanguin à l'inclusion (T0). Dix ans plus tard, ces femmes ont été recontactées et 104 d'entre elles ont été sollicitées pour un nouvel échantillon sanguin (T10). Grâce au test des comètes, avec systématiquement un témoin historique, nous avons quantifié le taux de dommages à l'ADN des lymphocytes selon un score visuel obtenu sur 200 noyaux par échantillon répartis en quatre classes de dommages.

Résultats : A l'inclusion, la moyenne d'âge des femmes était de 46 ans. L'âge n'était pas associé avec le taux de dommages à l'ADN ($p=0.5117$), de la même manière que le statut tabagique ($p=0.2322$). Une majorité de ces femmes étaient chefs d'exploitation ou co-exploitantes ($n=135$, 55%), elles travaillaient ou participaient aux activités d'élevages ($n=159$, 65%) et à la production laitière ($n=109$, 45%). Elles étaient exposées aux pesticides principalement par le biais de l'application d'antiparasitaires et d'insecticides aux animaux ($n=117$, 48%) et la désinfection du matériel de traite ($n=117$, 48%), alors qu'une proportion mineure appliquait des pesticides sur cultures ($n=3$, 1.22%). Néanmoins, la pratique de soins sur animaux d'élevage n'était pas associée avec une augmentation du score de dommages ($p=0.2264$).

La pratique de tâches administratives ($n=180$, 73%) et domestiques ($n=213$, 87%) tendait à être associée à un score de dommage à l'ADN plus faible que les femmes ne pratiquant pas ces tâches ($p=0.0810$ et $p=0.0737$, respectivement). De l'inclusion à fin 2017, 37 cas de cancers incidents ont été diagnostiqués, dont 57% de cancers du sein. Le score de dommages à l'inclusion n'était pas associé au risque de cancer ultérieur (tous cancers confondus) ($p=0.4664$).

Conclusion : Les conséquences des expositions professionnelles que subissent les femmes travaillant dans le secteur agricole pourraient être reflétées par le taux de dommages à l'ADN ; en effet leur exposition aux activités tertiaires de l'exploitation montre un niveau de dommages plus faibles que celles n'effectuant pas ces tâches. En revanche, le taux de dommages à l'ADN ne semble pas, aux premiers abords, être associé au développement de cancer (toutes localisations confondus).

Mots clés : Cancer, Agriculture, Exposition Professionnelle



24) Croyances conspirationnistes et recours aux médecines conventionnelles et non-conventionnelles en oncologie.

Valentyn FOURNIER¹, Florent VARET²

¹ Univ. Lille, ULR 4072 - PSITEC - Psychologie : Interactions, Temps, Emotions, Cognition, F-59000 Lille, France

² Anthro-p-Lab, ETHICS EA7446, Université Catholique de Lille, France

Introduction : Les croyances conspirationnistes peuvent avoir des effets délétères sur plusieurs comportements de santé. Elles sont notamment associées à un moindre recours à la médecine conventionnelle (MC) et à un plus grand recours aux médecines non-conventionnelles (MNC) de manière générale (Oliver & Wood, 2014). Par ailleurs, la littérature suggère l'existence d'une « disposition conspirationniste » où l'adhésion à certaines théories complotistes est corrélée à l'adhésion à d'autres théories complotistes (Drinkwater et al., 2020). Cependant, les études portant sur les relations entre croyances conspirationnistes et comportements de santé dans le champ de l'oncologie sont peu nombreuses à ce jour. Le développement de telles recherches semble nécessaire. En effet, il a par exemple été montré que le recours à des MNC en complément ou en remplacement chez des patients atteints d'un cancer au pronostic favorable est associé à un moindre recours à la MC ainsi qu'à une espérance de vie réduite (Johnson et al., 2018).

Ainsi l'adhésion à des théories conspirationnistes diverses serait associée à une plus grande adhésion à des croyances conspirationnistes spécifiques aux traitements oncologiques, et ces dernières seraient susceptibles d'augmenter le recours aux MNC et diminuer le recours au MC chez les patients atteints de cancer. De plus, ces effets des croyances conspirationnistes sur les intentions de recours aux traitements pourraient être renforcés chez les patients se voyant diagnostiquer un cancer à sévérité élevée (vs. modérée). En effet, la perception d'une menace existentielle peut amener les individus à se tourner davantage vers des croyances conspirationnistes pour guider leurs comportements (Van Prooijen, 2020).

Méthode : Cette étude a été menée sur une population générale.

L'adhésion à des théories conspirationnistes générales est mesurée par la General Conspiracy Beliefs Scale. L'adhésion à des théories conspirationnistes spécifiques aux traitements de MC oncologique est mesurée par le biais d'une échelle en 8 items conçue pour les besoins de l'étude dont les caractéristiques psychométriques se sont révélées très satisfaisantes.

Après avoir répondu aux précédents questionnaires, les participants sont ensuite exposés à un scénario fictif où ils sont invités à se mettre à la place d'un patient recevant un diagnostic de cancer, et où le suivi d'une chimiothérapie est recommandé comme traitement principal. La sévérité du cancer présenté est manipulée (sévérité modérée vs. sévérité élevée). Enfin, les intentions comportementales de recours aux traitements sont mesurées à l'aide d'échelles spécifiquement conçues pour l'étude.

Résultats : 248 participants ont été inclus dans cette étude.

Les participants dans la condition « faible sévérité » déclarent avoir plus l'intention de recourir à la MC que les participants dans la condition « forte sévérité » ($t_{246} = 2,07$; $p = .04$; $d = .26$). Aucun effet n'est retrouvé sur les intentions de recours aux MNC. Les effets d'interaction entre la variable sévérité et les autres variables sur les intentions de recours aux MC et aux MNC n'ont pas révélé de résultats significatifs.

L'intention de recours aux MC est influencé négativement par l'adhésion aux croyances conspirationnistes générales ($r = -.40$; $p < .001$). L'adhésion aux croyances conspirationnistes générales influence positivement l'intention au recours aux MNC en complément ($r = .17$; $p = .01$) et en remplacement ($r = .46$; $p < .001$). Ces relations sont totalement médiées par l'adhésion aux croyances conspirationnistes spécifiques liées à la chimiothérapie.

Discussion : Les résultats montrent que l'adhésion à des théories conspirationnistes spécifiques à la chimiothérapie est fortement liée à une disposition à adhérer à des théories conspirationnistes générales. Ces croyances spécifiques semblent être un prédicteur fort du recours aux MC et aux MNC.

Bien que la population de cette étude soit une population générale, des applications cliniques sont à envisager. En effet, il a été observé que l'adhésion à des théories du complot globales ou spécifiques influençait l'intention de prendre un traitement conventionnel ou non-conventionnel (en remplacement ou en complément). Compte tenu de l'implication du recours à ces médecines sur la survie des patients (Johnson et al., 2018a ; 2018b), il paraît primordial d'en étudier davantage les déterminants psychosociaux afin de disposer de leviers d'action.

Mots clés : croyances conspirationnistes ; cancer ; médecines non-conventionnelles ; chimiothérapie



26) Menopausal symptoms and sexual disorders in epithelial ovarian cancer survivors, A GINECO VIVROVAIRE2 study.

François GERNIER^{1,2}, Anne GOMPEL³, Christine ROUSSET-JABLONSKI⁴, Elsa KALBACHE⁵, Anne FLOQUET⁶, Dominique BERTON-RIGAUD⁷, Olivier TREDAN⁸, Jérôme ALEXANDRE⁹, Philippe FOLLANA¹⁰, Alain ZANNETTI¹¹, Nadine DOHOLLOU¹², Jean-Michel GRELLARD¹, Bénédicte CLARISSE¹, Idlir LICAJ^{1,2}, Djihane AHMED-LECHEHEB¹, Raffaèle FAUVET^{2,13,14}, Patricia PAUTIER¹⁵, Florence JOLY^{1,2,16,17}

¹ Clinical Research Department, Centre François Baclesse, av general Harris, Caen FR,

² INSERM, U1086, Caen,

³ Université de Paris,

⁴ Department of Surgery, Centre Léon Bérard, Lyon

⁵ Department of Oncology, CHU Jean Minjoz, Besançon

⁶ Department of Oncology, Institut Bergonie, Bordeaux

⁷ . Institut de Cancérologie de l'Ouest, Site René Gauducheau, Department of Oncology

⁸ Department of Oncology, Centre Léon Bérard, Lyon

⁹ Department of Oncology, Hospital Cochin, Paris,

¹⁰ . Department of Oncology, Centre Antoine Lacassagne, Nice

¹¹ . Department of Oncology, Centre Hospitalier de Cholet, Cholet

¹² Polyclinique Bordeaux Nord Aquitaine, Department of Oncology, Bordeaux

¹³ Department of Gynecology and Obstetrics, Caen University Hospital, Caen

¹⁴ University of Caen Normandy, INSERM U1199, BIOTICLA

¹⁵ Department of Oncology, Gustave Roussy, Villejuif

¹⁶ University of Caen Normandy, UMR-51077, Caen

¹⁷ Department of Oncology, CHU de Caen, Caen

Background: We have previously shown that epithelial ovarian cancer (EOC) and its treatments have negative effects on long-term quality of life (QoL) and fatigue. The present multicenter VIVROVAIRE2 study investigated the importance of menopausal symptoms and gynecological management of EOC survivors (EOCS).

Methods: 166 patients with relapse-free ≥ 3 years after first-line treatment attended a consultation with a gynecologist, including a questionnaire related to vasomotor symptoms (VMS) and sexuality, a clinical examination, standard biology and an osteodensitometry. QoL, fatigue, insomnia and mood disorders were measured with validated questionnaires and correlated to VMS. VMS and QoL were assessed according to natural menopause (NM) or surgical menopause (SM).

Results: Mean age at the survey was 62 [21-83] years and stage III/IV (48%). All patients had surgery and 97% received chemotherapy. Mean delay since treatment was 6 years. Fifty-nine patients (36%) had SM. Half of patients reported VMS. Seventy-two percent of EOCS with SM had VMS compared to 41% with NM ($P < .001$). VMS were not associated with poor global QoL, fatigue, insomnia or mood disorders. Two-thirds of EOCS had a decrease in libido. Patients with SM showed a greater decrease in libido than NM ($P < .02$). Fourteen percent of them had osteoporosis and 50% osteopenia. At the time of the survey, only 7 (4%) patients were receiving hormone replacement therapy (HRT). Among the 85 patients with VMS, 80 did not receive HRT after cancer treatment.

Conclusion: VMS and sexual disorders are frequently reported by EOCS, particularly among patients with SM. Most EOCS would benefit from receiving HRT to improve these symptoms.

Mots clés : *Epithelial ovarian cancer, long-term survivorship, menopause, hormone replacement therapy, vasomotor symptoms, quality of life, sexuality.*



37) Bénéfices de l'abstinence après exposition chronique à l'alcool sur l'agressivité dans un modèle cellulaire de Carcinome Hépatocellulaire (CHC).

Constance MARIÉ¹, Grégory FOUQUET¹, Hicham BOUHLAL¹, Éric NGUYEN-KHAC^{1,2}, Mickaël NAASSILA¹, Ingrid MARCQ¹

¹ INSERM U1247, Groupe de Recherche sur l'Alcool et les Pharmacodépendances (GRAP), Université Picardie Jules Verne (UPJV), Amiens, France

² Service d'Hépatogastroentérologie, Centre Hospitalo-Universitaire d'Amiens, Amiens, France

A l'échelle mondiale, la consommation d'alcool est la cause de 2,8 millions de décès par an. Notre pays trône en tête des pays les plus consommateurs d'alcool au monde, avec plus de 10% de français buvant quotidiennement. De surcroît, la région des Hauts-de-France est une des régions les plus consommatrices. Le mésusage de l'alcool a été démontré comme impliqué dans le développement de nombreuses pathologies et en particulier de multiples cancers. En effet, 70 à 85% des Carcinomes Hépatocellulaires (CHC) sont la conséquence d'une maladie hépatique liée à une consommation d'alcool durant de nombreuses années. Cette pathologie, évoluant à bas bruits, est majoritairement diagnostiquée à un stade avancé où le taux de survie des patients à 5 ans est inférieur à 10%. Aujourd'hui, aucune étude n'a démontré clairement les mécanismes physiopathologiques à l'origine de l'agressivité du CHC chez les consommateurs chroniques d'alcool. De façon étonnante, l'impact de l'alcool (étiologie majeure du CHC) et du sevrage sur la progression du cancer est peu étudié.

Notre étude a développé deux objectifs majeurs, premièrement modéliser, in vitro, les mécanismes physiopathologiques à l'origine du CHC, induits par une exposition chronique de plus de 6 mois à l'alcool et deuxièmement, définir via ce modèle cellulaire les bénéfices potentiels du sevrage. Notre projet permettrait de connaître objectivement l'influence de la consommation d'alcool sur l'agressivité du cancer et le rôle de l'abstinence.

De façon originale, nous avons mis au point un modèle cellulaire d'exposition très chronique à l'alcool. Pour cela, nous avons utilisé deux lignées cellulaires de CHC : les cellules Huh-7, décrites comme étant de grade précoce ; et les cellules SNU449, correspondant à un grade avancé. Ces deux lignées cellulaires ont été exposées quotidiennement à de l'alcool (80 mM, 160mM et 270mM) durant une période de 6 mois. A la suite de cette période, une condition exposée à l'alcool et une condition sevrée durant un mois a été établie pour chaque concentration étudiée. Dans un premier temps, le métabolisme de l'alcool a été caractérisé pour chaque lignée, notamment la capacité de synthèse d'acétaldéhyde, composé encore plus toxique que l'éthanol. Par la suite, nous avons analysé les effets de l'alcool et du sevrage sur les capacités migratoires et invasives, ainsi que sur l'expression des marqueurs de cellules souches cancéreuses (CSC), démontrés dans la littérature comme marqueurs d'agressivité (C133). De plus, au sein d'une cohorte de 68 patients du CHU d'Amiens nous avons déterminé l'expression des marqueurs CSC en fonction de l'étiologie de leur cancer.

Nos travaux démontrent pour la première fois les mécanismes physiopathologiques qui seraient induits lors de consommation chronique d'alcool. Nous avons pu déterminer des différences significatives entre les cellules de grade précoce et les cellules de haut grade de CHC. En effet, les cellules de grade précoce, exposées chroniquement à l'alcool, semblent acquérir des capacités propres aux cellules de haut grade. Nos travaux montrent une augmentation à la fois de l'expression de plusieurs marqueurs de CSC ainsi que des capacités migratoires et invasives permises par l'alcool. De façon très intéressante, nous observons une réversion partielle ou totale par le sevrage de ces modifications dues. Ces bénéfices du sevrage alcoolique pourraient expliquer les données épidémiologiques montrant une augmentation de la survie globale de 11,7 mois chez les patients abstinentes atteints de CHC par rapport à 7,6 mois chez les patients non abstinentes.

Via notre modèle cellulaire original de CHC, nos résultats permettent de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques par lesquels l'alcool favorise l'agressivité du cancer. De plus, ils expliquent clairement les mécanismes à la base des bénéfices du sevrage alcoolique sur l'agressivité. Nos résultats ont des implications majeures en terme d'argumentaire scientifique justifiant de l'intérêt de la prise en charge alcoolologique et d'objectif de sevrage dans le cadre du cancer du foie. De plus, les résultats de notre étude interrogent également sur les effets de l'exposition à l'alcool et de son arrêt sur les mécanismes physiopathologiques d'autres cancers.

Mots clés : Carcinome Hépatocellulaire, Foie, Alcool, Sevrage, Agressivité



54) Réactions stigmatisantes et représentations déshumanisantes de la défiguration faciale.

Pauline RASSET¹, Benoit MONTALAN², Jessica MANGE¹

¹ Laboratoire LPCN (EA 7452), MRSN (USR 3486, CNRS), Université de Caen Normandie

² Laboratoire CRFDP (EA 7475), Université de Rouen Normandie

Contexte : Certains traitements du cancer sont très mutilants et sont susceptibles d'être défigurants (e.g. cancers de la tête et du cou). A ce titre, les défigurations concernant le visage sont particulièrement préoccupantes car elles peuvent constituer des stigmates sociaux (i.e. des caractéristiques socialement dévaluées).¹ Cependant, peu d'auteurs se sont intéressés à la perspective des personnes qui stigmatisent alors que ce sont leurs réactions cognitives, affectives ou comportementales qui peuvent constituer des barrières à la vie sociale des personnes vivant avec une défiguration faciale (DF).²

Objectif : Ce projet de recherche vise donc à mieux comprendre les réactions stigmatisantes face à la DF, en mettant notamment en lumière le rôle de l'attention visuelle sur la DF. Plus précisément, il s'agit de déterminer si le regard porté sur la DF favorise les réactions stigmatisantes voire déshumanisantes.³

Méthodologie : Premièrement, l'attention visuelle portée sur la DF a été étudiée. Au moyen d'un oculomètre, le comportement oculaire des participants a été enregistré pendant qu'ils regardaient des visages présentant ou non une DF (Etude 1, E1). Deuxièmement, les réactions stigmatisantes envers les personnes présentant une DF ont été caractérisées. Plus précisément, les participants ont rapporté leurs réactions affectives face à une personne présentant une DF (E2). Dans une tâche de formation d'impression, les participants ont évalué des personnes présentant ou non une DF par le biais de questionnaires de déshumanisation (E3). Troisièmement, deux études en oculométrie ont été réalisées afin de déterminer si les réactions affectives stigmatisantes (E4) et les représentations déshumanisantes (E5) étaient liées à l'attention portée à ces visages.

Résultats : Premièrement, le pattern d'attention visuelle face aux visages est modifié par la présence d'une DF. Plus précisément, la capture attentionnelle opérée par la DF engendre une diminution de l'attention visuelle sur les éléments centraux du visage, notamment les yeux (E1). Deuxièmement, les réactions affectives face à la DF sont très ambivalentes, avec des réactions d'antipathie, de dégoût et de peur concomitantes à des réactions de surprise, de neutralité voire de sympathie (E2). Bien que la réaction de dégoût soit un précurseur des représentations déshumanisantes, la déshumanisation des personnes présentant une DF n'a pas été mise en évidence (E3).³ Toutefois, ce regard différent porté sur un visage présentant une DF influence les réactions affectives stigmatisantes (E4). En effet, les réactions de dégoût, de surprise et de perte de neutralité étaient liées à un surcroît d'attention porté à la DF, d'autant plus, ou seulement (pour la réaction de dégoût) si les yeux de la personne défigurée étaient peu regardés. Enfin, même si les visages présentant une DF subissent un traitement attentionnel qui est différent de celui opéré sur les autres visages humains, ce pattern ne semble pas favoriser les représentations déshumanisantes (E5).

Conclusion : La DF liée à un cancer et/ou son traitement est susceptible d'altérer considérablement la qualité de vie des personnes concernées. Ce projet de recherche qui souligne l'importance du regard dans les réactions stigmatisantes à la DF a des implications à la fois pour 1) les personnes défigurées, pour qu'elles puissent anticiper et comprendre les potentielles réactions de leur entourage social afin d'apprendre à y faire face, et 2) les personnes susceptibles de les côtoyer, pour qu'elles puissent prendre conscience du caractère stigmatisant de leurs réactions afin de les moduler.

Références.

1. Goffman E. *Stigma: Notes on the Management of Spoiled Identity*. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice-Hall; 1963. doi:10.2307/2575995
2. Bogart KR, Tickle-Degnen L, Joffe MS. Social interaction experiences of adults with Moebius Syndrome: A focus group. *J Health Psychol*. 2012;17(8):1212-1222. doi:10.1177/1359105311432491
3. Haslam N, Loughnan S. Dehumanization and Infrahumanization. *Annu Rev Psychol*. 2014;65(1):399-423. doi:10.1146/annurev-psych-010213-115045

Mots clés : Défiguration faciale, stigmatisation sociale, réactions affectives, déshumanisation, oculométrie

Agenda des prochains évènements du CNO

Les sessions de sensibilisation à l'entrepreneuriat en oncologie

« ONCOSTARTUPPER »

auront lieu les 19 et 20 octobre 2021, au format online.

Elles sont destinées aux doctorants, post doctorants et chercheurs ayant des projets à valoriser.

SESSIONS « ONCOSTARTUPPER » DE SENSIBILISATION À L'ENTREPRENEURIAT EN ONCOLOGIE

19 OCTOBRE 2021
Introduction et présentation OncoSTART
Pourquoi créer une entreprise en oncologie ?
L'importance de la dimension patient
De l'idée à la protection de son invention : vers une stratégie brevet en oncologie
De l'idée au produit/service : quelles ressources pour vous accompagner (incubateurs, investisseurs) ?
2 webinaires - Étude de marché onco / Étude de

20 OCTOBRE 2021
Rappel chronologique : De la pré-clinique à la start-up
De la protection à la création
Les écosystèmes territoriaux d'accompagnement
Aspects juridiques liés à la création
Financement de la création d'entreprise en oncologie
Partenariat des villes innovantes
Ateliers de co-création

SESSIONS TERRITORIALES DE SENSIBILISATION À L'ENTREPRENEURIAT EN ONCOLOGIE

Des sessions territoriales à venir en 2022 :
Lyon, Marseille, Nantes, Lille, Paris/Villeneuve-la-Duchègne, Bordeaux

• Dispositifs territoriaux de financement et d'accompagnement pour lancer le R&D innovant
• Créer une entreprise en Région : présentation de l'écosystème local de l'innovation
• Exemples de parcours de création réussis, témoignages de chercheurs-entrepreneurs

Pour en savoir plus sur nos activités, voir www.oncostart.fr

ONCOSTARTUPPER
SENSIBILISATION A L'ENTREPRENEURIAT EN ONCOLOGIE

Pour tous candidats entrepreneurs en oncologie (doctorants, postdoctorants, chercheurs ayant des projets à valoriser, etc.)
19 & 20 OCTOBRE 2021
DEMI JOURNÉES 10h - 13h
ONLINE

Mieux connaître l'écosystème d'innovation et les dispositifs d'accompagnement dédiés aux entrepreneurs en oncologie pour se lancer dans l'aventure entrepreneuriale !

CLARA, Canceropôle, canceropôle, canceropôle, Cancer Campus, SUSTAVE BLOUSSY, MATWIN, unicancer, Institut Carnot, Institut Carnot, Institut Carnot, Institut Carnot

Pour en savoir plus sur nos activités, voir www.oncostart.fr

onco START



<https://oncostart.fr/>

**La 2ème Journée de Recherche Translationnelle
CNO-CLIP2 Lille et Normand aura lieu
le Vendredi 19 Novembre 2021 de 9h30 à 17h,
Hôtel Mercure Abbeville.**

SESSION PLENIERE

Les CLIP² et la structuration interrégionale

- 10h00 - 10h30 Le réseau de collaborations inter-établissements
- 10h30 - 11h00 Les changements dans les essais de phase précoce

Interface CLIP²/laboratoires de recherche : des patients à la paillasse

- 11h00 - 11h30 L'exemple du ciblage de PARP
 - 11h30 - 12h00 L'exemple de l'hématologie
- Cocktail déjeunatoire

SESSION « RCP MOLECULAIRE : DE L'ALTERATION AU TRAITEMENT »

- 14h00 - 14h30 Où et avec quelles techniques ?
- 14h30 - 15h10 Les nouvelles approches
- 15h10 - 16h30 Comment interpréter les résultats ? 4 études de cas
- 16h30 - 17h00 Etude fondamentale de la résistance
- 17h00 : Fin de la journée

Comité organisateur :

Aurore ACROUTE,
Elodie COQUAN,
Alexis CORTOT,
Florence JOLY,
Loïc LEBELLE, C,
Véronique PANCRE,
Nicolas PENEL

Inscription gratuite et obligatoire
jusqu'au 5 novembre sur

<https://www.escape.canceropole-nordouest.org/#/manifestation/subscription/36>



LES TRANSLATIONNELLES

**Les Translationnelles en oncologie du CNO 2021
porteront sur «La résistance aux thérapies innovantes»
et auront lieu les 2 et 3 décembre 2021, à Lille**

Il s'agit d'une formation gratuite aux approches translationnelles
en cancérologie
pour jeunes chercheurs et cliniciens.

Après une formation sur différents traitements innovants (inhibiteurs de PARP, Inhibiteurs de Tyrosine Kinases, immunothérapies...) et les résistances observées en pratique clinique, les jeunes participants motivés pour construire un projet de recherche translationnelle sur la thématique se constitueront en groupes de travail, accompagnés par une équipe encadrante. Le CNO associe à cette formation, avec le soutien du laboratoire Astrazeneca, une bourse de 10 000 € qui permettra la mise en œuvre du meilleur projet de recherche translationnelle proposé à l'issue des Translationnelles 2021.

L'évènement, pour les jeunes chercheurs et cliniciens participant à l'élaboration de projets, est résidentiel. Le CNO prend en charge la totalité des frais (transport, hébergement, restauration) pour ces participants.

A noter !

- **17 décembre 2021 : Réunion annuelle de l'axe 3 au Centre Oscar Lambret, Lille**
- **1er semestre 2022 : Journée Cancer de la Prostate Cancéropôle Nord-Ouest**
- **4 et 5 mars 2022 : Journées DDR Astrazeneca, sous l'égide du CNO**

**Les Prochaines Journées scientifiques du CNO auront lieu
du mercredi 4 au vendredi 6 mai 2022.**

Inscriptions sur :

www.escape.canceropole-nordouest.org

Session jeunes chercheurs

Communications orales et posters par ordre alphabétique

NOM	n° poster ou com. orale	n° page	Axe	NOM / Prénom	n° poster ou com. orale	n° page	Axe
AHMAD Mohammad	1	42	1	HANTUTE-GUESQUIER Aline	30	56	1
AUWERCX Julie	2	43	1	HEDHLI Kaies	31	74	2
BASTIEN Etienne	Com Orale	40	5	LAILLER Claire	32	57	1
BEAUPLET Bérengère	3	94	5	LAILLET DE MONTULLE Emmanuel	33	81	4
BÉCAM Julie	Com Orale	37	4	LEFEBVRE Anthony	34	58	1
BEN AHMED Awatef	4	44	1	LEMERCIER Quentin	35	82	4
BEN KHOUD Meriem	5	69	2	LEVACHER Corentin	36	59	1
BINARELLI Giulia	6	75	4	LEWUILLON Clara	Com Orale	35	2
BINARELLI Giulia	7	76	4	MARIE Constance	37	98	5
BOSCHER Clémence (excusée)	8	77	4	MARTIN Lucie	38	83	4
BOUDRY Augustin	9	70	2	MILHEM Clara	39	60	1
BRULE Mathilde	10	45	1	MONTHE-SAGAN Kelly	40	84	4
CAILLOT Mélody	Com Orale	34	2	MOUMMAD Ilyass	Com Orale	36	3
CAILLOT Mélody	11	71	2	MUTEL Alexandre	41	85	4
CAILLOT Mélody	12	72	2	NICOLA Celeste	42	86	4
CAROUGE Elisa	13	46	1	NICOLA Celeste	43	87	4
CHAMLALI Mohamed	14	47	1	PARMENT Renaud	Com Orale	39	4
CICERO Julien	15	78	4	PARMENT Renaud	44	88	4
DELANNOY Elise	Com Orale	31	1	PASQUET Nolwenn	45	89	4
DENOULET Marie	16	48	1	PAYSANT Hippolyte	46	61	1
DOS SANTOS Mélanie	Com Orale	38	4	PEPERSTRAETE Evodie	47	62	1
DRISSA Inès	17	49	1	PERRIER Joy	48	90	4
DUCROCQ Bryan	18	50	1	PERRIER Joy	49	91	4
DWIRI Fatima-Azzahra	19	79	4	PREVOST Lucie	50	92	4
EVENDEN Poppy	20	95	5	RAAB Sadia	51	63	1
FANTIN Jade	21	80	4	RABY Ludivine	52	64	1
FELLAH Sandy	22	51	1	RAKOTOMALALA Andria	53	93	4
FLORENT Romane	23	52	1	RASSET Pauline	54	99	5
FOURNIER Valentyn	24	96	5	STOUP Nicolas	Com Orale	32	1
GERMAIN Nicolas	25	73	2	THOMINE Cécilia	Com Orale	33	1
GERNIER François	26	97	5	THOREL Lucie	55	65	1
GUEDENEY Nicolas (Excusé)	27	53	1	TRIOEN Camille	56	66	1
GUERIN Célia	28	54	1	TROUVILLIEZ Sarah	57	67	1
HADJ BACHIR Elsa	29	55	1	TURPIN Anthony	58	68	1