



**cancéropôle**  
Nord-Ouest

Accélérer la recherche & l'innovation en cancérologie

**2023**

# 15<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques

Du mercredi **10 mai** - 14h au vendredi **12 mai** - 13h

Centre International de Deauville

# 20 ans

## Anniversaire



## Nouvelle labellisation 2023 - 2027





# 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.pancre@canceropole-nordouest.org

Anne Girard, Directrice  
anne.girard@chu-lille.fr

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

Marina Denyset, Chargée de mission scientifique  
marina.denyset@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 15 <sup>ÈMES</sup> JOURNÉES SCIENTIFIQUES	P 5 - 10
PARTENAIRES ET SPONSORS	P 10
SESSION THÉMATISÉE « LES TUMEURS SUR PUCES : AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ? »	P 11 - 17
CONFÉRENCE DE CLÔTURE « DÉVELOPPEMENT DURABLE ET BOULEVERSEMENTS ENVIRONNEMENTAUX : QUEL RÔLE POUR LES CHERCHEUR(E)S ? »	P 18
PROJETS EMERGENTS CNO : PRÉSENTATION DES RÉSULTATS	P 19 - 29
PROJET STRUCTURANT CNO : PRÉSENTATION DES RÉSULTATS	P 30 - 31
SESSION JEUNES CHERCHEURS	P 32
RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS ORALES SÉLECTIONNÉES	P 32 - 42
RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES PAR ORDRE ALPHABÉTIQUE	P 43- 105
AGENDA DES PROCHAINS ÉVÈNEMENTS DU CNO	P 106 - 108
COMPOSITION DU COMITÉ DE PILOTAGE SCIENTIFIQUE DU CNO	P 109
TABLEAU DES COMMUNICATIONS ORALES ET POSTERS PAR ORDRE ALPHABÉTIQUE - SESSION JEUNES CHERCHEURS	P 110



## Edito

Cette année à Deauville, le CNO fêtera à la fois le 15<sup>ème</sup> anniversaire de ses journées scientifiques et le 20<sup>ème</sup> anniversaire de sa création, l'occasion pour nous de faire un bilan au plus proche de nos travaux mais aussi de prendre la distance nécessaire pour mieux percevoir le sens de notre action dans le monde actuel. La conférence donnée par le Pr Claude GRISON sur le rôle des chercheurs au regard des bouleversements environnementaux actuels et à venir nous aidera dans cette réflexion.

Cette année « anniversaire » sera aussi résolument tournée vers l'avenir puisque le Cancéropôle est à nouveau labellisé par l'INCa pour le quinquennat à venir. Nouvelle labellisation, nouveau plan d'action qui sera présenté et discuté lors de ces journées !

Et comme chaque année, la plus grande place sera donnée aux plus jeunes d'entre nous pour leur donner l'occasion de communiquer sur leurs derniers travaux et dernières hypothèses : dix communications orales et une session poster jeunes chercheurs témoignant de la diversité des disciplines oeuvrant dans le Cancéropôle et de la vivacité de ses équipes de recherche.

Je souhaite à tous des échanges fructueux lors de cette quinzième édition de nos journées scientifiques de Deauville.

Guy LAUNOY  
Président du Cancéropôle Nord-Ouest





# Mercredi 10 mai 2023

## Programme

Enregistrement des participants dès 13h15

13h30	Café d'accueil
14h00 - 14h05	Accueil et Introduction. <i>Guy LAUNOY, Président du Cancéropôle Nord-Ouest</i>
14h05 - 14h20	Intervention du Pr Bruno QUESNEL, Directeur du Pôle Recherche et Innovation à l'INCa

14h20 - 18h15

### Session thématisée

## LES TUMEURS SUR PUCES : AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?

Modérateurs : David TULASNE et Laurent POULAIN

14h20 - 14h55	Tumeur-sur-puces pour modéliser ex vivo des écosystèmes tumoraux immunocompétents. <i>Maria Carla PARRINI (PhD, Institut Curie – Section de recherche, Inserm U830 – Paris) (p11)</i>
14h55 - 15h30	Les tumeurs sur puce, de la conception aux applications. <i>Stéphanie DECROIX (Directrice de recherche CNRS, Institut Curie, Institut Pierre Gilles De Gennes) (p12)</i>
15h30 - 16h15	Une brève histoire du futur des organoïdes et tumoroïdes sur puce. <i>Xavier GIDROL (Head of BIOMICS Lab (CEA/INSERM/UGA) Co-Director ITMO-Technologies for Health (AVIESAN) et Fabrice NAVARRO (Head of Microsystems for Life Service, CEA LETI) (p13)</i>
16h15 - 16h45	Pause
16h45 - 17h45	Présentation de 4 projets du CNO
16h45 - 17h00	• MecanoGlio : Mise au point de chambres microfluidiques adaptées à l'invasion sous contrainte de cellules de glioblastome, par Çagatay TARHAN (p14)
17h00 - 17h15	• Application des systèmes de microfluidique à l'étude fonctionnelle de la leucémie aiguë myéloïde, par Loïc LEMONNIER (p15)
17h15 - 17h30	• Cancer du Pancréas sur puce, par Vincent SENEZ (p16)
17h30 - 17h45	• Vaisseaux sanguins-sur-puce pour de nouveaux modèles 3D de barrière vasculaire, par Fabrice SONCIN (p17)
17h45 - 18h15	Table ronde avec l'ensemble des intervenants





# Mercredi 10 mai 2023

## Programme



18h15 - 18h45

### SESSION POSTER JEUNES CHERCHEURS

#### Présentations FLASH

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

#### Témoignages

18h45 – 18h55

##### Témoignage sur le dispositif de soutien à la Mobilité du CNO.

par Julien CICERO (doctorant, équipe Plasticité Cellulaire et Cancer, CANTHER INSERM 1277, CNRS 9020), projet "Cibler les mécanismes qui permettent aux cellules cancéreuses mammaires de détourner les neurotrophines produites par les neurones". Déplacement dans l'équipe Ikeuchi Lab – Biomolecular and Cellular engineering, The University of Tokyo – Institute of industrial science, Japon, pour 2 mois.

18h55 - 19h05

##### Témoignage sur le dispositif des Translationnelles du CNO

par Lucie THOREL et Léa BOIDIN pour le projet intitulé "Utilisation de la Thérapie Photodynamique pour lever la résistance aux PARPi sur des organoïdes de carcinomes ovariens – Essai PhotoPARP". (Projet soutenu à l'issue des Translationnelles du CNO 2021 sur La résistance aux thérapies innovantes et porté par Lucie THOREL, Camille TRIOEN, Léa BOIDIN et Roman VION).

20h00 - 22h00

Cocktail dînatoire autour de l'espace poster





# Jeudi 11 mai 2023

## Programme

Enregistrement des participants dès 8h30

8h30 - 9h00

**Accueil**

9h00 - 9h15

Retour sur 20 ans du CNO.  
Par Pierre FORMSTECHEUR et Yvan DE LAUNOIT, anciens présidents du CNO

9h15 - 11h30

### LES ORIENTATIONS STRATÉGIQUES DU CNO DANS LE CADRE DE LA LABELLISATION 2023 - 2027.

#### Le Plan d'action 2023-2027

Véronique PANCRE, Directrice scientifique du CNO

10h00 - 10h30

**Pause**

10h30 - 11h30

**Les axes prioritaires illustrés par des exemples**



11h30 - 12h30 : **Visite des posters pairs**

12h30 - 13h30

**Cocktail déjeunatoire**

13h30 - 14h30 : **Visite des posters impairs**

14h30 - 17h00

### SESSION JEUNES CHERCHEURS

#### 10 Communications orales



1. Julie AUWERCX : Le domaine kinase de TRPM7 : un acteur impliqué dans la migration, l'invasion et la TEM des cellules cancéreuses pancréatiques humaines. (p33)
2. Léa BOIDIN : Thérapie Photodynamique ciblée utilisant un photosensibilisateur vectorisé couplé à un analogue de l'acide folique : Une nouvelle thérapie capable de traiter la carcinose péritonéale ovarienne et de stimuler une réponse immunitaire effectrice. (p34)
3. François CHERIFI : The promising prognostic value of vagal nerve activity at the initial management of ovarian cancer. (p35)
4. Corentin LEVACHER : SEALights : une innovante approche ciblée à haut-débit pour l'étude des ARN messagers et des ARN circulaires. (p36)
5. Floriane RACINE : The tumor coagulome as a transcriptional target and a potential effector of glucocorticoids in human cancers. (p37)





# Jeudi 11 mai 2023

## Programme

6. Claire DEGAND : La capacité de réserve mitochondriale : Un nouveau biomarqueur métabolique prédictif de l'agressivité de la Leucémie Aiguë Myéloïde. (p38)
7. Marie-Océane LAGUILLAUMIE : Altérations de l'homéostasie calcique dans la dormance tumorale de leucémie myéloïde. (p39)
8. Mylène DUIVON : Association entre les marqueurs de l'inflammation mesurés au moment du diagnostic et les troubles cognitifs 2 ans après diagnostic du cancer du sein. (p40)
9. Quentin LEMERCIER : Interactions neurones-cellules de gliome dans les processus d'invasion de la substance blanche, dans un modèle préclinique de glioblastome. (p41)
10. Valentin FOURNIER : « On nous ment ! » : induction expérimentale de l'adhésion à des théories du complot et intention de recours à la chimiothérapie. (p42)

17h00 - 17h30

Pause

17h30 - 19h00

### Les Projets émergents du CNO

17h30 - 17h50

- Développement de modèles cellulaires d'épimutation constitutionnelle du gène MLH1 : une utilisation originale des cellules souches pluripotentes induites. Julie LECLERC (p20)

17h50 - 18h10

- Caractérisation moléculaire d'une cohorte multicentrique de lymphomes B primitifs du médiastin : étude PMBL LYSA BIO. Vincent CAMUS (p21)

18h10 - 18h30

- Evaluation préclinique de molécules inhibitrices d'UBE2N pour sensibiliser les cancers de l'ovaire aux inhibiteurs de PARP. Matthieu MERYET-FIGUIERE (p22)

18h30 - 18h50

- Rôle et ciblage du récepteur MET et de ses relais transcriptionnels ETS dans la progression métastatique du cancer de la prostate. Anne CHOTTEAU (p23)

18h50 - 19h10

- 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 (p24)

20h00

Dîner de clôture de la deuxième journée





# Vendredi 12 mai 2023

## Programme

Enregistrement des participants dès 8h15

8h30 - 9h00

**Café d'accueil**

9h00 - 11h30

### Les Projets émergents du CNO (suite)

9h00 - 9h20

- Etude du microbiote cutané chez la souris exposée corps entier à des faisceaux de photons ou de protons balayés combinés à l'Olaparib. Stéphanie GENTE (p25)

9h20 - 9h40

- Invasion des cellules de glioblastome dans la substance blanche et dommages tissulaires associés. Oana CHEVER (p26)

9h40 - 10h00

- Thérapie combinée via des nanoémulsions pour un traitement optimisé du glioblastome. Aurélie MALZERT-FREON (p27)

10h00 - 10h30

**Pause**

10h30 - 10h50

- Métrologie de l'IRM quantitative : la diffusion & perfusion. Frederik CROP (p28)

10h50 - 11h10

- Études sur les réactions publiques aux stigmates de la laryngectomie totale. Benoît MONTALAN (p29)

### Présentation du projet structurant DECIBEL du CNO

11h10 - 11h30

Enjeux et difficultés de l'évaluation des actions visant à améliorer la détection des cancers de la cavité buccale et de l'oropharynx. Lydia GUITTET (p31)

11h30 - 12h15

### Conférence de clôture

## « DÉVELOPPEMENT DURABLE ET BOULEVERSEMENTS ENVIRONNEMENTAUX : QUEL RÔLE POUR LES CHERCHEUR(E)S ? »

donnée par le Pr. Claude GRISON (p18)

Directrice de recherche au CNRS

Directrice du Laboratoire de Chimie bio-inspirée et d'Innovations écologiques

Membre correspondant national de l'Académie Nationale de Pharmacie

Membre de l'Académie européenne des Sciences





# Vendredi 12 mai 2023

## Programme

12h15- 12h25

### Remise des prix jeunes chercheurs

Prix communications  
orales et posters



Prix du public par les



NORMANDIE

&

LILLE - FLANDRES - ARTOIS

12h25- 12h30

### Conclusion Guy LAUNOY

## Merci à nos partenaires

pour leur soutien au financement de l'ensemble

des prix jeunes chercheurs

---

## Ainsi qu'à nos sponsors

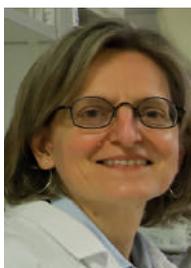




**Mercredi 10 mai 2023**

Session thématisée

**LES TUMEURS SUR PUCES :  
AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?**



**Maria Carla PARRINI**  
*PhD, Institut Curie – Section de recherche,  
Inserm U830 – Paris*

**Tumeur-sur-puces pour modéliser ex vivo des écosystèmes tumoraux immunocompétents.**

Il y a un clair besoin de nouvelles approches pour prédire l'efficacité des médicaments d'immunothérapie. La technologie des tumeurs-sur-puces exploite la microfluidique pour générer des co-cultures cellulaires 3D intégrées dans des hydrogels qui récapitulent les caractéristiques immunitaires et stromales d'un écosystème tumoral simplifié. Nous avons développé et validés des plateformes de tumeurs pulmonaires sur puce pour mesurer rapidement et précisément ex vivo les effets des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire (anti-PD-1) sur la mort des cellules cancéreuses médiées par les lymphocytes T, en exploitant la puissance de l'imagerie en direct et d'algorithmes avancés d'analyse d'images. Ces tumeurs sur puces peuvent être générées avec des cellules primaires autologues dérivées de patients, à partir d'échantillons frais de cancer du poumon, ouvrant la voie à des applications en médecine personnalisée. Cette combinaison interdisciplinaire de dispositifs microfluidiques, de modèles cellulaires cliniquement pertinents et de méthodes informatiques avancées pourrait améliorer de manière innovante à la fois la compréhension fondamentale et l'efficacité clinique des médicaments immuno-oncologiques.

*MC Parrini est une biologiste cellulaire, experte en transduction des signaux intracellulaires, en motilité cellulaire et en imagerie avancée des cellules vivantes. Elle a effectué un doctorat en Biochimie à l'Ecole Polytechnique, un premier post-doc à la Harvard Medical School de Boston et un deuxième post-doc à l'Université de Osaka au Japon. Elle a rejoint l'Institut Curie à Paris en 2003, où elle développe et applique des approches innovantes pour étudier la biologie des cellules cancéreuses. En particulier elle a été une pionnière dans le domaine de la technologie des tumeurs sur puce.*

NOTES





Mercredi 10 mai 2023

Session thématisée

**LES TUMEURS SUR PUCES :  
AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?**

**Les tumeurs sur puce, de la conception aux applications.**



**Dr. Stéphanie DECROIX**  
Team Leader at Institut Curie (UMR 168) /  
Institut Pierre Gilles De Gennes, Paris

Microfluidics emerged about 30 years ago as a disruptive technology for the analytical sciences. Since then, microfluidics has come a long way and has enabled major advances in our understanding of physics at the microscopic scale, with great recent applications in the energy field for example, but more recently, life sciences is the area where microfluidics is emerging as a game changer.

In this presentation, I will explain how microfluidics and microfabrication can be used to develop new relevant in vitro models of tumor on chip. The potential of tumor on chip to develop innovative therapies.

<sup>1</sup>Siria, M.-L. Bocquet and L. Bocquet, *New avenues for the large scale harvesting of blue energy*, *Nature Reviews Chemistry* (2017) 1 0091

*Stéphanie Descroix holds a master's degree in life sciences which she completed with a PhD in analytical chemistry in 2002. She then obtained a position as a CNRS researcher at ESPCI Paris where she worked on miniaturized bioanalytical devices in particular for allergy diagnosis. In 2011, she joined the Institut Curie to benefit from this unique interdisciplinary and clinical environment. She is the team leader of the MMBM team at the Institut Curie Paris and the Institut Pierre Gilles De Gennes. The team focuses on the development of microfluidic devices and concepts for fundamental biology, biophysics and clinics, with a strong focus on organs-on-a-chip. She successfully co-launched in 2016 the company Inorevia, which develops droplet-based tests for biology.*

NOTES





**Mercredi 10 mai 2023**

Session thématisée

**LES TUMEURS SUR PUCES :  
AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?**

**Une brève histoire du futur des organoïdes et tumoroïdes sur puce.**

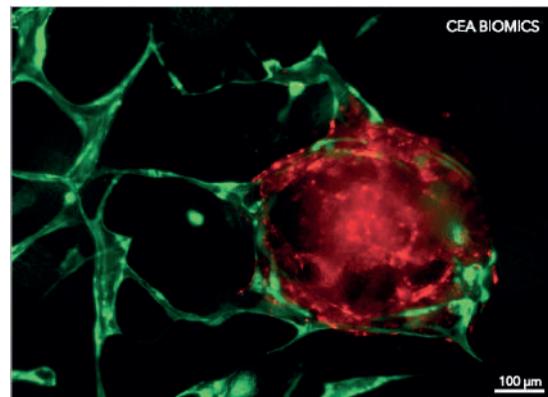


*Xavier GIDROL, Head of BIOMICS Lab (CEA/INSERM/UGA) Co-Director ITMO-Technologies for Health (AVIESAN) et Fabrice NAVARRO, Head of Microsystems for Life Service, CEA LETI)*

*Xavier GIDROL (DR CEA) was educated as a molecular biologist and geneticist of cancer. After 12 years abroad (USA, Singapore, Japan), he manages since 2009, the "BIOMICS" laboratory at CEA Grenoble, specialized in the use of microsystems for cell biology. They develop organoids, organoids-on-chip and RNAi-based functional genomics in oncology. He co-authored more than 140 publications and 6 patents. He is the co-founder of the start-up Genel (2014) and the co-director of ITMO-Technologies for health (2020).*

Organoids & organoids-on-chip have the potential, as human organ substitutes, to fill the gap that exists today between 2D human cell culture and animal experimentation. We use microfluidics, MEMS (MicroElectroMechanical Systems) and genetic engineering to produce and characterize human 3D organs substitutes. Those will impact our understanding of living organisms, by better mimicking the cellular development of healthy or pathological tissue. On a longer term, these organs substitutes will also make it possible to carry out personalized medicine, while reducing the number of experiments on laboratory animals.

*Fabrice NAVARRO (CEA) was educated as a cellular biologist in neurosciences and inflammation. After a post-doctoral position and various research projects in nanomedicine, mainly dealing with the delivery of biomacromolecules (nucleic acids, proteins, peptides), he started to manage a lab in 2016 dedicated to microfluidic systems and bioengineering. Since early 2023, he is now the head of service of Microsystems to interact with living systems at CEA Leti (applied research division), addressing research and technology development topics such as Point of Care Testing, Organ on Chip or delivery technologies. He is co-author of more than 45 peer-reviewed publications, 38 reviewed proceedings as well as co-inventors of more than 12 patents.*





**Mercredi 10 mai 2023**

Session thématisée

**LES TUMEURS SUR PUCES :  
AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?**



**Çagatay TARHAN**  
Enseignant/Chercheur, Institut d'électronique  
de microélectronique et de nanotechnologie

**MecanoGlio : Mise au point de chambres microfluidiques  
adaptées à l'invasion sous contrainte  
de cellules de glioblastome.**

Gliomas are the most common primary tumours of the central nervous system. Glioblastoma is particularly resistant to chemo/radiotherapy, and recurrence is quasi-systematic with no curative treatment. This poor prognosis is partly linked to the invasive nature of glial tumour cells capable of infiltrating, under the effect of chemoattractant stimuli, the healthy nervous parenchyma. MechanoGlio aims to demonstrate that migrating cells undergo pressure phenomena that damage or modify the structure of the tumour cell nucleus wall. The objective is to understand the mechanism whereby signals of a chemoattractant nature cause glioma cells to migrate into healthy brain parenchyma subjected to various mechanical stresses. These mechanical pressure and stress can lead to the rupture of the nuclear membrane, modifications of DNA structures, and diffusions of DNA damage repair factors. These mechanisms would result in changes in gene expression and/or the accumulation of epigenetic alterations, and genetic mutations, explaining treatment resistance and recurrence.

We developed three devices that complement each other. The first device connects two parallel channels with compression sub-channels where cells pass through narrow constrictions. Inlets and outlets are controlled with automated microfluidic pumps to provide different solutions at different steps capable of forming a chemoattractant gradient along connecting subchannels. Although this device has certain benefits due to precise controlling capabilities, it requires a dedicated setup with several pumps and control algorithms. Therefore, we developed a second device type for daily use without peripheral equipment. The two parallel channels are replaced with two reservoirs and connecting constraint channels, allowing several experiments in parallel. Both device types having cells migrating through constraints make it difficult for proteomic analysis, which demands a massive number of cells. As the third device, we flow cells through constrictions to obtain the required number of cells for proteomic analysis in an acceptable period.

To conclude, these tumour-on-chip devices show significant potential for different target applications, which may lead to identifying new innovative therapeutic strategies aimed at reducing or eliminating tumour recurrence.

*M. Çagatay Tarhan is an enseignant/chercheur at the Institute of Electronics, Microelectronics and Nanotechnology (IEMN), and at Junia-ISEN, Lille, France. He received his M.Sc. and Ph.D. degrees in electrical engineering from The University of Tokyo, Tokyo, Japan in 2007 and 2010, respectively. He worked as a researcher at the Institute of Industrial Science, The University of Tokyo, and at LIMMS/ CNRS-IIS, Tokyo (2010-2016) until moving to France for his current position. He is currently involved in the SMMIL-E Project, a joint project among CNRS, IIS/The University of Tokyo, the University of Lille, and the Centre Oscar Lambret, applying MEMS technology to cancer studies.*





**Mercredi 10 mai 2023**

Session thématisée

**LES TUMEURS SUR PUCES :  
AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?**



**Loïc LEMONNIER**  
Deputy Director  
Inserm U1003, Laboratory of Cell Physiology  
SN3 bldg, University of Lille, Campus Sciences et Technologies

**Application des systèmes de microfluidique à l'étude fonctionnelle  
de la leucémie aiguë myéloïde.**

Malgré l'efficacité des traitements actuels, la grande majorité des patients atteints de LAM (leucémie aiguë myéloïde) vont connaître une rechute liée à la persistance de cellules leucémiques chimio-résistantes (MRD, minimal residual disease). Nous avons récemment montré que les canaux calciques ORAI pourraient jouer un rôle dans l'apparition de cette chimiorésistance. Par ailleurs, des études ont montré que les cellules résiduelles malignes peuvent persister sous le contrôle d'une réponse immunitaire spécifique des lymphocytes T, et que la synapse immunologique (SI) entre les cellules T et leurs blastes autologues peut être défectueuse. Cependant, aucune étude n'a été réalisée pour décrypter la signature calcique à l'échelle de la SI dans un contexte clinique ou de dormance tumorale.

Dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire SMMiL-E, nous avons mis au point des systèmes microfluidiques permettant de réaliser des mesures de l'activité des canaux calciques en temps réel. Ces mesures d'imagerie calcique sont réalisées soit sur les différentes sous-populations cellulaires directement isolées dans des prélèvements de patients représentant les différents stades d'évolution de la maladie (diagnostic, MRD, rechute), soit lors de la formation de SI entre cellules leucémiques et lymphocytes T. Ces dispositifs microfluidiques nous permettent donc de mieux comprendre l'évolution pendant la progression de la maladie du dialogue bilatéral entre les lymphocytes T et les cellules leucémiques, mais pourraient également à terme servir à évaluer le potentiel thérapeutique de nouvelles molécules ciblant la SI.

*Le Dr Loïc Lemonnier a obtenu son doctorat en biologie à l'Université de Lille 1 (France) en juin 2004. Au cours de sa thèse, il a étudié l'implication des VRACs (Volume-Regulated Anion Channels) dans la progression du cancer de la prostate sous la direction du Pr. Roman Skryma. Après un stage postdoctoral dans le laboratoire du Dr. JW Putney (NIEHS, Caroline du Nord, USA), il a été recruté comme chercheur Inserm (CRCN) en 2008. Son activité de recherche se concentre aujourd'hui sur les canaux calciques TRP et SOC et leurs rôles dans le cancer. Il est depuis 2020 directeur adjoint de l'UMR 1003 (Inserm), et co-directeur de l'équipe 1 « rôle des canaux ioniques dans l'initiation et la progression tumorale ».*

NOTES





**Mercredi 10 mai 2023**

Session thématisée

**LES TUMEURS SUR PUCES :  
AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?**



Vincent SENEZ  
Directeur de Recherche au CNRS

**Cancer du Pancréas sur puce.**

L'adénocarcinome canalaire pancréatique (PDAC) est l'une des principales causes de décès liés au cancer dans de nombreux pays développés, la mortalité étant égale à l'incidence. Le mauvais pronostic des patients atteints de PDAC est attribué à plusieurs facteurs, dont la dissémination précoce de la maladie, qui fait que la majorité des patients atteints de PDAC sont diagnostiqués avec une maladie métastatique. Par conséquent, peu de patients peuvent bénéficier d'une résection chirurgicale curative et la majorité d'entre eux doivent être traités par chimiothérapie systémique. Malgré les progrès considérables réalisés ces dernières années, la chimiothérapie reste largement inefficace pour produire des réponses cliniques significatives ou améliorer la survie des patients atteints de PDAC. La modification massive du tissu conjonctif (stroma) est un des facteurs majeurs de cette inefficacité thérapeutique. Le PDAC est donc un cancer pour lequel la modélisation prédictive du microenvironnement tumoral pourrait conduire à des avancées très significatives vers la découverte de nouvelles thérapies. Nous discuterons de l'intérêt des technologies de miniaturisation (microfluidique, micromécanique, microfabrication,) pour concevoir un modèle 3D dynamique de cette tumeur et expliquer l'intérêt de ce modèle par rapport aux modèles statiques de type 'organoïde'.

*Vincent Senez est ingénieur en électronique (1990) et docteur en physique avec une spécialité en micro- et nanotechnologies (1995). Il est entré au centre national de la recherche scientifique (CNRS) en tant que jeune chercheur en 1999. De 2002 à 2004, il a été directeur du laboratoire pour les systèmes intégrés micro-mécatronique (LIMMS) à Tokyo, une unité de recherche mixte entre le CNRS et l'institut des sciences industrielles de l'université de Tokyo. À partir de 2008, en tant que directeur de recherche CNRS, il a établi un groupe de recherche multidisciplinaire pour développer des activités dans le domaine des technologies microfluidiques à l'institut d'électronique, de microélectronique et de nanotechnologies (IEMN) à Lille. Depuis octobre 2018, il a rejoint l'institut de recherches interdisciplinaires en cancérologie de Lille (ONCOLille) pour promouvoir la diffusion des technologies de miniaturisation (MEMS) dans un environnement clinique. Ses recherches portent sur la microfluidique et les technologies MEMS ainsi que sur les organes sur puce instrumentés.*

NOTES





**Mercredi 10 mai 2023**

Session thématisée

**LES TUMEURS SUR PUCES :  
AVANTAGES, LIMITES, QUEL AVENIR ?**



*Fabrice SONCIN  
Research Director at  
INSERM, LIMMS/IIS  
SMMiL-E project, Lille*

**Vaisseaux sanguins-sur-puce pour de nouveaux modèles 3D de barrière vasculaire.**

Blood vessel-on-a-chip (VoC) approaches aim at reproducing vascular functions. However, very few efficient methods have been designed in order to construct structurally sound VoC and to address the need for biological replicates in medium- to high-throughput screenings for drug testing. In order to address the challenges of making structurally correct, multicellular VoC while using a simple method with the aim of producing large numbers of vessels at one time, we used the viscous finger patterning (VFP) technique which allowed for the making and testing of several tens of blood vessels simultaneously in standard multi-well format, suitable for high-throughput drug screening.

Our engineered VoC show well-structured endothelial cell adherens- and tight-junctions, are reactive to pro-inflammatory cytokines such as TNF $\alpha$  and to permeability agonists such as thrombin. More complex and structurally correct vessels were engineered by consecutively seeding perivascular and then endothelial cells in concentric and distinct layers. The addition of peri-vascular cells greatly improves the VoC barrier functions. A permeability assay was designed, and a method was set up to calculate diffusive permeability coefficients from video recordings of the diffusion of fluorescent dextran. The devices are compatible with the recovery and isolation of nucleic acids from each single vessel for transcriptomic analyses. Furthermore, the original design allowed the making and use of tens of vessels in parallel, and the vessels could be challenged with biological replicates of different conditions, including positive and negative controls at the same time, making the process compatible with medium- to high-throughput screening.

Delannoy E. et al. *Biomedicines* 2022, 10(4), 797

*Fabrice Soncin is Research Director at INSERM. After passing his PhD thesis on Molecular Biology at Paris VI University, he moved to Harvard Medical School, Boston, USA, first as a post-doc fellow, then promoted to Instructor. He spent 5 years in Boston during which he worked on blood vessel endothelial cells at the Center for Biochemical and Biophysical Sciences and Medicine, then on the heat-shock response in cancer cells at the Dana Farber Cancer Institute. He was recruited at INSERM at Ecole Normale Supérieure in Paris, later moved to Pasteur Institute of Lille where he directed a team dedicated to research on tumor angiogenesis for 15 years. He joined the LIMMS/IIS - SMMiL-E project in 2018 to work on his current projects on vascularized organs-on-chip. He published more than 70 research articles in the blood vessel field, was the first President of the French Angiogenesis Society ([www.angiogenese.fr](http://www.angiogenese.fr)) and is past and current member of various cancer charity associations boards, government scientific committees & research evaluation panels.*

NOTES





Vendredi 12 mai 2023

## Conférence de clôture

# « DÉVELOPPEMENT DURABLE ET BOULEVERSEMENTS ENVIRONNEMENTAUX : QUEL RÔLE POUR LES CHERCHEUR(E)S ? »



*Pr. Dr. Claude Grison  
Directrice du Laboratoire de Chimie bio-inspirée et d'Innovations écologiques  
Membre correspondant national de l'Académie Nationale de Pharmacie  
Membre de l'Académie européenne des Sciences*

*ChimEco UMR 5021 CNRS – UM, Cap Delta, 1682 Rue de la Valsière,  
34790 Grabels, France*

### Écoresponsabilité : La Nature comme source d'innovation

Dans une société en profonde mutation, la chimie doit intégrer les dimensions sociales et économiques de ces procédés, mais aussi la notion d'éco-responsabilité. Dans ce contexte, le laboratoire de chimie bio-inspirée et innovations écologiques (UMR 5021 CNRS - Univ. Montpellier) développe une nouvelle filière verte, qui s'appuie sur une innovation de rupture en chimie, appelée écocatalyse ou catalyse écologique. Son originalité repose un concept inhabituel : combiner Nature, écologie, chimie, recherche et industrie.

Ce rapprochement ne va pas de soi. L'objectif de ces recherches visent pourtant à démontrer qu'il est possible d'intégrer activité économique, optimisme technologique et recherche de stratégies environnementales innovantes comme un véritable vecteur du développement durable.

### Référence

- 1. Nature, Ecology and Chemistry: an unusual combination for a new green catalysis, Ecocatalysis, Curr. Opin. Green Sustain. Chem. 2018, 10, 6-10, P.A. Deyris, C. Grison*
- 2. Ecocatalysis, a new vision of Green and Sustainable Chemistry, Curr. Opin. Green Sustain. Chem, 2021, 29, 100461. C. Grison, Y. Lock Toy Ki.*
- 3. <http://www.chimeco-lab.com>*

*Claude Grison est Directrice de recherche au CNRS et Directrice du laboratoire de Chimie Bio-inspirée et Innovations écologiques. Elle est à l'origine du concept de l'Ecocatalyse®, qui a fait émerger un nouvel axe de recherche à l'interface de la Chimie bio-inspirée et de l'Ecologie scientifique ; il correspond à une approche globale du développement durable débouchant aujourd'hui sur l'élaboration d'une nouvelle filière verte qui s'appuie sur la réhabilitation écologique de sites pollués ou dégradés, la préservation des zones humides et une valorisation chimique et économique inédite des phytotechnologies développées. Ses activités de recherche ont conduit à la création de deux entreprises, Bioinspir et Laboratoires Bioprotection. Claude Grison est l'auteur de 175 publications et ouvrages, 45 brevets et 192 conférences. Ses travaux ont été récompensés par 13 Prix scientifiques dont le prix de l'inventeur européen 2022, le Prix A. Joannides de l'Académie des Sciences 2016, le Prix Homme-Nature de la fondation Sommer 2016 et la médaille de l'Innovation du CNRS 2014. Claude Grison est membre de l'Académie Nationale de Pharmacie et de l'Académie Européenne des Sciences.*





## 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.

115 projets financés  
(2012-2023)

20 K€ par projet

2 M€ investis

### EFFET LEVIER

Plus de 9 M€ obtenus  
par la suite



### HAUT RISQUE HAUT POTENTIEL

## NOUVEAUTÉ EN 2023

Dans le cadre de sa nouvelle labellisation 2023-2027, le Cancéropôle Nord-Ouest a mis en place son premier appel à projets annuel de type « Haut Risque Haut Potentiel », en soutenant des projets originaux, conceptuellement nouveaux, voire risqués, qui ne pourraient pas être financés par les appels à projets existants.

Ainsi, à titre d'exemple, les projets peuvent :

- Proposer et explorer une idée totalement novatrice, en définissant une nouvelle question de recherche,
- Développer une solution inédite pour une difficulté scientifique, technique ou théorique,
- Utiliser une approche méthodologique radicalement différente de l'usuel.

3 projets financés  
pour cette première  
édition 2023

20 K€ par projet





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Julie LECLERC

**Développement de modèles cellulaires d'épimutation constitutionnelle du gène *MLH1* : une utilisation originale des cellules souches pluripotentes induites.**

Sacha BRIS<sup>1</sup>, Pierre COLLIGNON<sup>1</sup>, Camille LORET<sup>1</sup>, Lucie DELATTRE<sup>2</sup>, Laurent DAVID<sup>3,4</sup>, Anne GAIGNERIE<sup>3</sup>, Anne ROVELET-LECRUX<sup>5</sup>, Audrey VINCENT<sup>1</sup>, Sonia PAGET<sup>1</sup>, Mouloud SOUIDI<sup>1</sup>, Bernadette NEVE<sup>1</sup>, Marie-Pierre BUISINE<sup>1,2</sup>, Pascal PIGNY<sup>1,2</sup>, Julie LECLERC<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Univ. Lille, CHU Lille, Molecular Oncogenetics Unit, Department of Biochemistry and Molecular Biology, F-59000 Lille, France.

<sup>3</sup> Univ. Nantes, CHU Nantes, INSERM, Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie, UMR 1064, ITUN, F-44000 Nantes, France.

<sup>4</sup> Univ. Nantes, CHU Nantes, INSERM, CNRS, SFR Santé, FED 4203, INSERM UMS 016, CNRS UMS 3556, F-44000 Nantes, France.

<sup>5</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, Inserm U1245, CHU Rouen, Department of Genetics, F-76000 Rouen, France.

Les épimutations représentent un mécanisme alternatif aux mutations génétiques dans l'étiologie de certaines maladies génétiques. C'est le cas dans le syndrome de Lynch, qui est un syndrome de prédisposition héréditaire au cancer lié à une altération génétique constitutionnelle d'un des gènes codant les protéines impliquées dans la réparation des mésappariements de l'ADN (système MisMatch Repair). Pour quelques patients, l'altération constitutionnelle responsable de la prédisposition aux cancers est épigénétique et correspond à une hyperméthylation du promoteur des gènes *MLH1* ou *MSH2*.

Les épimutations constitutionnelles du gène *MLH1* représentent de très bons modèles d'étude des épimutations constitutionnelles et des mécanismes épigénétiques sous-jacents, en raison de leur grande diversité. En effet, ces épimutations peuvent être primaires, correspondant à une altération épigénétique pure labile dans les lignées germinales, ou secondaires, c'est-à-dire associées à une altération génétique en cis transmise à la descendance sur un mode Mendélien. De plus, les altérations génétiques en cis identifiées chez les patients avec épimutations secondaires sont très diverses. Dans notre cohorte de patients porteurs d'une épimutation identifiés au CHU de Lille dans le cadre du diagnostic moléculaire de syndrome de Lynch, nous avons ainsi pu mettre en évidence l'insertion d'une séquence *Alu* dans l'exon 1 du gène *MLH1*, une duplication en tandem de 29,5 kb et un nouveau variant ponctuel situé dans l'intron 1.

Nous développons des modèles cellulaires d'épimutations secondaires du gène *MLH1*, basés sur l'utilisation de cellules souches pluripotentes induites (iPSC). Les iPSC sont utilisées pour leur capacité de méthylation *de novo* (capacité qui est perdue dans les cellules différenciées), ce qui représente une utilisation originale de ces cellules, plutôt exploitées dans le cadre de la recherche pour leurs capacités de différenciation. Les variants génétiques identifiés chez les patients porteurs d'une épimutation secondaire sont reproduits dans les iPSC grâce à la technologie de *genome editing* CRISPR-Cas9. L'apparition d'une hyperméthylation *de novo* sur le promoteur du gène est ensuite étudiée.

L'intérêt de ces modèles est : (1) de disposer d'un test fonctionnel permettant de démontrer l'implication des variants du gène *MLH1* identifiés chez les patients dans la méthylation du promoteur du gène ; (2) d'étudier les acteurs épigénétiques impliqués dans l'hyperméthylation ciblée de *MLH1* ; (3) de tester des thérapies déméthylantes qui pourraient être utilisées chez les patients.

**Mots clés : épimutations constitutionnelles, cellules souches pluripotentes induites, syndrome de Lynch, épigénétique, oncogénétique.**

NOTES





## Projet émergent Cancérologie Nord-Ouest

Vincent CAMUS

### Caractérisation moléculaire d'une cohorte multicentrique de lymphomes B primitifs du médiastin : étude PMBL LYSA BIO.

Vincent CAMUS<sup>1,2</sup>, Pierre-Julien VIAILLY<sup>2</sup>, Pierre SESQUES<sup>3</sup>, Fanny DRIEUX<sup>4</sup>, Elena-Liana VERESEZAN<sup>4</sup>, Corinne HAIOUN<sup>5</sup>, Eric DUROT<sup>6</sup>, Martine PATEY<sup>7</sup>, Cédric ROSSI<sup>8</sup>, Laurent MARTIN<sup>9</sup>, Vinciane RAINVILLE<sup>2</sup>, Elodie BOHERS<sup>2</sup>, Philippe RUMINY<sup>2</sup>, Mathieu VIENNOT<sup>2</sup>, Jérôme PAILLASSA<sup>10</sup>, Olivier TOURNILHAC<sup>11</sup>, Alexandre WILLAUME<sup>12</sup>, Chloé ANTIER<sup>13</sup>, Julien LAZAROVICI<sup>14</sup>, Emilie LÉVÊQUE<sup>15</sup>, Pierre DECAZES<sup>16</sup>, Stéphanie BECKER<sup>16</sup>, David TONNELET<sup>16</sup>, Alina BERRIOLO-RIEDINGER<sup>17</sup>, Philippe GAULARD<sup>18</sup>, Hervé TILLY<sup>1,2</sup>, Thierry MOLINA<sup>19</sup>, Alexandra TRAVERSE-GLEHEN<sup>20</sup>, Fabrice JARDIN<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dépt d'Hématologie Centre Henri Becquerel (CHB), Rouen / <sup>2</sup>INSERM U1245, CHB, Univ Rouen / <sup>3</sup>Dépt d'Hématologie, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite / <sup>4</sup>Dépt d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHB, Rouen / <sup>5</sup>Service des hématopathies lymphoïdes, CHU Henri Mondor, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Créteil / <sup>6</sup>Dépt d'Hématologie, CHU de Reims / <sup>7</sup>Dépt d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Reims / <sup>8</sup>Dépt d'Hématologie, CHU de Dijon / <sup>9</sup>Dépt d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Dijon / <sup>10</sup>Dépt d'Hématologie, CHU d'Angers / <sup>11</sup>Dépt d'Hématologie, CHU de Clermont-Ferrand / <sup>12</sup>Dépt d'Hématologie, CHU de Lille – Hôpital Claude Hurriez / <sup>13</sup>Dépt d'Hématologie, CHU de Nantes / <sup>14</sup>Dépt d'Hématologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif / <sup>15</sup>Unité de Recherche Clinique, CHB, Rouen / <sup>16</sup>Dépt de Médecine Nucléaire and QuantIF-LITIS-EA4108, Univ Rouen, CHB, Rouen / <sup>17</sup>Dépt de Médecine Nucléaire, CHU de Dijon / <sup>18</sup>Dépt d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Henri Mondor, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Créteil / <sup>19</sup>Dépt d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Necker, Paris / <sup>20</sup>Dépt d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite

**Introduction :** Le lymphome B primitif du médiastin (PMBL) est une entité unique avec un pronostic exceptionnellement bon, à l'exception d'environ 15 % de patients chimio-réfractaires. Le diagnostic de routine repose sur une confrontation entre la clinique et l'histologie. Il n'existe pas d'outils pour détecter précocement les patients à haut risque d'être chimio-réfractaires.

**Méthodes :** Nous avons mis en œuvre une caractérisation biologique d'une cohorte rétrospective multicentrique au sein des centres du groupe coopérateur LYSA dont nous avons précédemment rapporté les résultats cliniques. Cette cohorte comportait 313 patients adultes atteints de PMBL traités en 1<sup>ère</sup> ligne par ACVBP ou CHOP plus anticorps anti-CD20 entre 2007 et 2017. Nous avons revu de manière centralisée 211 cas pour lesquels nous avons reçu du matériel tumoral disponible au moment du diagnostic, puis nous avons exclu 17 cas (erreurs de classification/matériel inadéquat pour un diagnostic). Ensuite, nous avons étudié le profil d'expression génique (GEP) avec un test RT-MLPA à 137 gènes (signature LymphoSign) et le profil mutationnel par séquençage de nouvelle génération (NGS) avec un panel de 45 gènes. Les critères d'évaluation principaux étaient la survie sans progression (SSP) et la survie globale (SG) selon les données moléculaires.

**Résultats :** Nous avons obtenu des données GEP et NGS exploitables pour 120 (62 %) et 128 (66%) cas, respectivement, dont 140 patients ayant eu au moins un des deux tests. Nous avons observé une expression dominante des gènes *drivers* du PMBL : *IL4I1*, *B2M*, *PDL2*, *CD23*, *CD30*, *MAL*, *PDL1* et *STAT6*. Les gènes les plus fréquemment mutés en NGS étaient *SOCS1* (85,5 %), *B2M* (61,1 %), *STAT6* (51,9 %), *IGLL5* (51,1 %) et *TNFAIP3* (51,1 %). Après intégration des données morphologiques et moléculaires disponibles, 131/194 cas (67,5 %) ont été considérés comme PMBL bona fide (avec une morphologie et un profil moléculaire typiques). Au sein du groupe PMBL bona fide, nous avons identifié un cluster de 43 cas avec surexpression des gènes *PDL1* et *PDL2* (*PDL1*+/*PDL2*+, seuil  $\geq$  expression médiane de chaque gène). Comparativement aux autres patients, les sujets *PDL1*+/*PDL2*+ avaient les caractéristiques suivantes : âge médian [intervalle] de 34 [18-67] ans (vs 33,5 [19-64] ans,  $p=0,621$ ), sexe masculin : 53 % (vs 35 %,  $p=0,05$ ), LDH élevées : 95% (vs 76,3%,  $p=0,008$ ), ECOG/PS 0-1 : 79% (vs 89,6%,  $p=0,12$ ), stade III-IV : 55,8% (vs 39%,  $p=0,08$ ), IPI $\geq 3$  : 37,2% (vs 18,4%,  $p=0,027$ ), atteintes extra-ganglionnaires : 60% (vs 45,5%,  $p=0,12$ ), volume tumoral métabolique (MTV) $\geq 360$  cm<sup>3</sup> : 53% (vs 25,4%,  $p=0,007$ ). Les traitements du groupe *PDL1*+/*PDL2*+ n'ont pas été différents des autres patients : R-ACVBP : 69,8% (vs 66,2%), R-CHOP14 : 18,6% (vs 20,8%) et R-CHOP21 : 11,6% (vs 14,3%) ( $p=0,411$ ). En analyse univariée, le statut *PDL1*+/*PDL2*+ était associé à une SSP (HR=7,  $p<0,001$ ) et une SG (HR=15,  $p<0,001$ ) plus faibles. Les mutations de *B2M* étaient inactivatrices et associées à une SSP inférieure ( $p=0,006$ ). Dans un modèle multivarié incluant l'IPI $\geq 3$ , le statut *PDL1*+/*PDL2*+, le MTV $\geq 360$  et les mutations de *B2M*, seul le statut *PDL1*+/*PDL2*+ était un facteur pronostique indépendant de SSP défavorable (HR=7,1, IC95% [1,5 ; 33,1],  $p=0,013$ ).

**Conclusion :** La caractérisation moléculaire des PMBL à l'aide des outils GEP et NGS peut être un support précieux pour les pathologistes, à travers l'obtention d'un diagnostic intégré. En particulier, le test RT-MLPA pourrait servir de test diagnostique compagnon. Nous avons identifié un sous-groupe de patients atteints de PMBL avec un phénotype d'échappement immunitaire basé sur une surexpression des gènes *PDL1* et *PDL2* qui ont un pronostic défavorable avec l'immunochimiothérapie de première intention. De nouvelles approches doivent être évaluées pour ces patients, y compris l'utilisation des anti PD1 en 1<sup>ère</sup> ligne.

**Mots clés :** Lymphome B primitif du médiastin, Profil d'Expression Génique, RT-MLPA, surexpression *PDL1*/*PDL2*, échappement immunitaire





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Matthieu MERYET-FIGUIERE

### Evaluation préclinique de molécules inhibitrices d'UBE2N pour sensibiliser les cancers de l'ovaire aux inhibiteurs de PARP.

Leonie Ibazizene <sup>1,2</sup>, Come Ghadi <sup>3</sup>, Florian Schwalen <sup>3</sup>, Charline Kieffer <sup>3</sup>, Jana Sopkova-de Oliveira Santos <sup>3</sup>, Anne-Sophie Voisin-Chiret <sup>3</sup>, Matthieu Meryet-Figuier <sup>1,2</sup>, Louis-Bastien Weiswald <sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Normandy University, UNICAEN, INSERM U1086 ANTICIPE (Interdisciplinary Research Unit for Cancers Prevention and Treatment), BioTICLA laboratory (Precision medicine for ovarian cancers).

<sup>2</sup> Comprehensive Cancer Center François Baclesse,

<sup>3</sup> Avenue du Général Harris, BP 45026, 14 076, Caen, Cedex 05, France. <sup>3</sup> CERMN (Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie), Normandy University UNICAEN, 14000 Caen, France.

Les cancers de l'ovaire représentent la première cause de décès par cancer gynécologique dans les pays développés, avec 240 000 cas pour 152 000 décès dans le monde chaque année, la survie à 5 ans ne dépassant pas 40% pour les stades avancés. Les causes principales d'échec thérapeutique sont un diagnostic tardif et une récurrence accompagnée de l'acquisition d'une résistance aux sels de platine.

Près de la moitié de ces cancers présentent cependant des altérations de la recombinaison homologue (HR) qui les rendent sensibles à des inhibiteurs de la protéine PARP (PARPi), impliquée dans la réparation de l'ADN. Pour les patientes qui peuvent en bénéficier, ces molécules améliorent grandement le pronostic et allongent fortement la survie. Toutefois, les patientes ne présentant pas de défauts de la voie HR, ou chez qui cette voie est restaurée dans la tumeur au fil des traitements, ne peuvent bénéficier de cette avancée thérapeutique majeure.

Notre laboratoire a récemment montré que l'inhibition d'UBE2N, un acteur important de la réparation de l'ADN par HR, sensibilise à l'action du carboplatine des lignées d'organoides dérivés de tumeurs ovariennes. Or, étant donné le lien entre réponse au carboplatine et réponse aux PARPi, nous avons émis l'hypothèse que l'inhibition d'UBE2N pourrait sensibiliser à l'action des PARPi.

L'utilisation d'un inhibiteur d'UBE2N déjà décrit dans la littérature, le NSC697923, nous a permis de montrer que l'inhibition d'UBE2N sensibilise à l'action des PARPi un certain nombre de modèles de tumeurs, tandis que d'autres ne sont pas sensibilisés. Ces résultats sont encourageants et cohérents avec le mode d'action d'UBE2N : seuls les modèles avec une HR fonctionnelle sont sensibilisés en théorie.

Toutefois, les propriétés physicochimiques du NSC697923 le rendent incompatible avec une potentielle utilisation clinique. Peu de molécules inhibitrices d'UBE2N ont été décrites dans la littérature, et toutes partagent les limites du NSC697923 quant à une éventuelle utilisation clinique. C'est pourquoi nous avons également initié des travaux de recherches d'inhibiteurs d'UBE2N potentiellement utilisables en clinique. Une première série de molécules est en cours de tests à cet effet.

En conclusion, nous avons pu consolider la pertinence du ciblage d'UBE2N pour sensibiliser les cancers ovariens à l'action des PARPi, tout en posant les premières fondations d'un programme de recherche d'inhibiteurs d'UBE2N utilisables en clinique.

**Mots clés : Cancer de l'ovaire, UBE2N, Inhibiteurs pharmacologiques**

NOTES





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Anne CHOTTEAU

### Rôle et ciblage du récepteur MET et de ses relais transcriptionnels ETS dans la progression métastatique du cancer de la prostate.

Elisa CAROUGE<sup>1</sup>, Martin FIGEAC<sup>2</sup>, Clémence BURNICHON<sup>1</sup>, Audrey DENGREMONTE<sup>1</sup>, David TULASNE<sup>1</sup>, Anne CHOTTEAU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CANTHER Team TARGET - UMR 9020 CNRS/UMR-S 1277 INSERM Lille

<sup>2</sup> UAR2014 / US41 PLB&S - Go@L-GFS Lille

Le cancer de la prostate (CaP) est le cancer masculin le plus fréquent en France et dans les pays occidentaux. C'est un cancer à évolution lente, dont l'âge moyen de diagnostic est de 70 ans et pour lequel le traitement est très dépendant du stade d'évolution. Au diagnostic de la maladie, les premiers traitements utilisés sont les hormonothérapies anti-androgènes. Cependant, la quasi-totalité de ces cancers développent des résistances menant à des cancers dits résistants à la castration (CRPC), ces stades plus avancés pouvant être métastatiques. L'apparition de métastases signe l'évolution dramatique de la maladie et l'incidence de la mortalité.

Il n'existe que peu ou pas de bons marqueurs permettant à la fois le diagnostic et/ou le pronostic de la maladie et de ses différents stades évolutifs, dont l'apparition des métastases, pour majorité osseuses.

Ces dernières années, plusieurs acteurs importants pour la progression des CaP ont été identifiés. Il s'agit notamment de MET, un récepteur membranaire, ainsi que des facteurs de transcription de la famille ETS, surexprimés suite à des remaniements chromosomiques.

Un certain nombre de données démontre que MET et les facteurs de transcription ETS appartiennent à la même voie de régulation. Cependant, leur rôle précis et leur coopération au cours de la cancérisation et de la progression du CaP restent à déterminer.

A partir de différents modèles de cellulaires cancéreuses prostatiques présentant ou non l'expression des fusions (ERG ou ETV - qui représentent la majorité des fusions ETS dans le CaP) et/ou une voie de signalisation MET active, nous avons analysé les modalités de cette coopération et cherché à définir le programme transcriptionnel, par une analyse transcriptomique comparative à grande échelle.

Notre programme de recherche a ainsi pour but de mettre en lumière les gènes cibles et les signatures spécifiquement engagées dans ces modifications afin de décrypter l'interface fonctionnelle entre le récepteur MET et les fusions ETS dans la progression du CaP et particulièrement dans la progression métastatique associée à l'androgéno-résistance.

A terme, la connaissance des mécanismes mis en œuvre devrait permettre d'identifier de nouveaux partenariats et acteurs moléculaires pouvant constituer des outils de diagnostic, pronostic ou encore des voies de ciblage utilisables en thérapeutique.

**Mots clés : Prostate, Cancer, récepteur MET, facteur de transcription ETS, Analyse transcriptomique**

NOTES





## Projet émergent Cancéro-pôle Nord-Ouest

Nicolas GERMAIN

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.

N GERMAIN <sup>1,2</sup>, M DHAYER <sup>1</sup>, S DEKIOUK <sup>1</sup>, P MARCHETTI <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut de Recherche contre le Cancer de Lille, UMR9020 – UMR-S 1277 – Canther Cancer Heterogeneity, Plasticity and Therapy Resistance F-59000 Lille, France,

<sup>2</sup> Banque de Tissus, Centre de biologie-pathologie, CHU Lille, F-59000 Lille, France

Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), ont révolutionné la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique, mais le développement d'une résistance est fréquent et conduit très souvent à une rechute. Le microenvironnement cellulaire, en particulier les cellules adipocytaires, ainsi que le microenvironnement physique, en particulier la rigidité du substrat, sont des facteurs importants de la résistance aux ITK. En utilisant une approche de bioimpression 3D qui augmente considérablement la capacité et la complexité des études *in-vitro*, grâce à l'ajout précis et contrôlé de matrice extracellulaire, nous avons bioimprimé des cellules leucémiques DA1-3b/M0 et K562. Ceci nous a permis de démontrer qu'en modifiant les paramètres de rigidité du microenvironnement, des sphéroïdes leucémiques pouvaient être obtenus, dans une configuration très proche des amas cellulaires trouvés dans les sarcomes granulocytaires. Le sarcome granulocyttaire (également appelé leucémie myéloïde aiguë extramédullaire) est une tumeur composée de cellules granulocytaires immatures. Il s'agit d'une maladie rare, le plus souvent associée à une leucémie myéloïde aiguë (LAM) ou à une leucémie myéloïde chronique (LMC) en phase blastique. La pathogenèse de ces tumeurs a été associée à l'expression aberrante de molécules d'adhésion cellulaire, de récepteurs/ligands de chimiokines et de la signalisation RAS-MAPK/ERK. Leur association avec la leucémie aiguë intramédullaire est fréquente, puisque 75 à 90 % des patients ont ou auront une LAM. L'étiologie et les mécanismes de ces sarcomes granulocytaires sont encore largement inconnus et les traitements utilisés, qui sont principalement ceux des tumeurs intramédullaires, peuvent ne pas être adaptés.

Ce nouveau modèle bioimprimé de sarcome granulocyttaire nous permettra (i) d'évaluer les facteurs déterminant l'apparition de ces sarcomes, (ii) de déterminer les paramètres qui favoriseront ses localisations cutanées ou profondes et (iii) de déterminer la résistance de ce modèle bioimprimé aux ITKs.

Par ailleurs les connaissances acquises grâce au financement AAP émergent du Cancéro-pôle Nord-Ouest sur la bioimpression de cellules leucémiques, nous permettront à terme de reproduire un environnement médullaire complexe *in vitro* qui nous permettra d'une part de bénéficier de modèles *in vitro* plus pertinents que les modèles 2D et d'autre part de réduire le recours à l'expérimentation animale.

NOTES





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Stéphanie GENTE

### Etude du microbiote cutané chez la souris exposée corps entier à des faisceaux de photons ou de protons balayés combinés à l'Olaparib.

GENTE S<sup>1</sup>, RAULINE A<sup>1</sup>, LEQUESNE E<sup>1</sup>, FEUILLOLEY M<sup>2</sup>, BOUKERBAM<sup>2</sup>, STEFAN D<sup>1,3</sup>, POUZOULET F<sup>4</sup>, DE MARZIL<sup>5</sup>, MEGNIN-CHANET F<sup>6</sup>, HABRAND JL<sup>1,7</sup>, SICHEL F<sup>1,7</sup> et LAURENT C<sup>1,7,8</sup>

<sup>1</sup> ABTE-ToxEMAC, Université de Caen-Normandie, Caen, France

<sup>2</sup> UR4312 CBSA, Université de Rouen, Evreux, France

<sup>3</sup> Service de Radiothérapie, CLCC Baclesse, Caen, France

<sup>4</sup> Département de Recherche Translationnelle, Institut Curie, Orsay, France

<sup>5</sup> Service de Physique Médicale, Centre de Protonthérapie, Orsay, France

<sup>6</sup> INSERM U1196, UMR9187, CMIB, Institut Curie, Orsay, France

<sup>7</sup> CLCC Baclesse, Caen, France

<sup>8</sup> SAPHYN-ARCHADE, Caen, France

Dans le cadre du programme ARCHADE à Caen, le projet ToxiP3 vise à évaluer la toxicité des traitements combinés par photon- ou protonthérapie et un inhibiteur de PARP.

Une partie innovante de ce travail consiste en l'évaluation des conséquences de ces traitements sur le microbiote cutané. En effet, dans la littérature, peu de recherches ont été menées dans ce domaine. Pourtant, il est reconnu qu'une dysbiose peut entraîner l'apparition de maladies cutanées.

Le microbiote cutané humain est composé d'environ  $10^2$  à  $10^6$  cellules par  $\text{cm}^2$ , les bactéries étant les micro-organismes les plus représentés.

Pour cette étude, nous avons exposé des souris C57Bl6 corps entier à des faisceaux de photons ou de protons balayés +/- olaparib au Centre de Protonthérapie d'Orsay. Un suivi vétérinaire des souris a été effectué.

Après une étude préliminaire comparant plusieurs zones cutanées, les oreilles ont été prélevées : l'une a servi à une étude quantitative et qualitative du microbiote cutané cultivable et l'autre à une étude de métagénomique.

Concernant la méthode culturale, des dilutions ont été réalisées afin d'effectuer un dénombrement après infusion. Les colonies intéressantes ont été repiquées puis identifiées par galerie API ou séquençage.

Les résultats ont montré une augmentation de la population bactérienne chez les souris irradiées en comparaison des souris témoins. La combinaison avec l'olaparib conduit à une augmentation encore plus importante. En revanche, la diversité est moins importante après irradiation +/- olaparib que dans les groupes non-irradiés avec une présence importante de *Staphylococcus aureus* pour les groupes témoin et de *Staphylococcus xylosus* dans les lots traités.

Concernant la méthode génomique, après séquençage sur Illumina, on observe de la même façon une perte de diversité dans les groupes irradiés +/- olaparib. L'ajout de l'olaparib en plus de l'irradiation conduit notamment à une augmentation des *Clostridia*. Ces résultats sont à rapprocher de l'étude du stress oxydatif et de l'inflammation effectuée au niveau cutané dans le projet ToxiP3.

Pour poursuivre ce travail, une étude clinique de patients traités par radiothérapie est envisagée. Elle sera menée par écouvillonnage cutané avant, pendant et après traitement par radiothérapie conventionnelle ou protonthérapie, l'objectif étant d'observer si le microbiote cutané des patients varie au cours du traitement et si la nature et/ou la densité de ce dernier peut être reliés à la radiosensibilité.

**Mots clés : Microbiote cutané, radiothérapie, protonthérapie, tissus sains, radiosensibilité**





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Oana CHEVER

### Invasion des cellules de glioblastome dans la substance blanche et dommages tissulaires associés.

Oana CHEVER<sup>1,2\*</sup>, Quentin LEMERCIER<sup>1,2\*</sup>, Thaïs VERSCHAEVE<sup>1,2</sup>, Alexis LEBON<sup>2,3</sup>, Lucie MARTIN<sup>1,2</sup>, L. DESRUES<sup>1,2</sup>, P. GANDOLFO<sup>1,2</sup>, H. CASTEL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, CBG, INSERM U1245, Rouen, France

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

<sup>3</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, Regional Cell Imaging Platform of Normandy (PRIMACEN), Mont-Saint-Aignan, France

\* égales contributions

La dissémination des cellules cancéreuses dans le cerveau est un facteur majeur de récurrence dans les gliomes diffus, en particulier, dans le cas du glioblastome, la forme la plus agressive des gliomes, avec une médiane de survie des patients de 15 mois seulement.

Les cellules de gliome se détachent de la masse tumorale et s'infiltrent progressivement dans le parenchyme cérébral sain, occasionnant des dommages tissulaires dans les zones infiltrées. Dans le cerveau, les cellules utilisent principalement les vaisseaux sanguins comme support de migration, mais également les faisceaux de fibres de substance blanche. Composée notamment de fibres nerveuses, la substance blanche constitue une structure propice à la dissémination tumorale sur de grandes distances. L'altération de cette structure participe de plus au développement de déficits fonctionnels et cognitifs observés chez les patients. Ainsi, il apparaît nécessaire de caractériser les dommages fonctionnels dans ce micro-environnement particulier, pour en comprendre les spécificités.

Des expériences d'immunohistochimie et d'électrophysiologie sur tranches ont été conduites dans un modèle murin de glioblastome (après injection stéréotaxique de cellules humaines de glioblastome U87-GFP). Dans la substance blanche, des lésions péritumorales sont retrouvées aux abords des tumeurs (réactivité astrocytaire, activation microgliale, dommages axonaux,...). Ces dommages s'accompagnent de changements d'excitabilité axonale. De manière intéressante, des dommages plus modérés sont également retrouvés à distance, en amont des colonnes d'invasion, issues de fibres projetant ou issues des zones corticales péritumorales. Ainsi dans la substance blanche, les cellules tumorales s'infiltrent dans un environnement local déjà altéré et hyperexcitable. En parallèle la mise en place de la photométrie par fibre a été faite pour évaluer son exploitation pour la détection d'activité axonale, dans la perspective d'application *in vivo*. Néanmoins, contrairement à l'électrophysiologie, cette technique ne peut être envisagée pour détecter de faibles activités axonales, mais uniquement des activités de grandes amplitudes.

Ces travaux permettent de mettre en évidence des altérations précoces des faisceaux de substance blanche, susceptibles d'influencer le comportement d'invasion des cellules tumorales.

Financements : Cancéropôle Nord-Ouest (Projet Emergent, 2020), FEDER/Région Normandie (RIN Axone/Gliome, 2020).

#### NOTES





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Auréli MALZERT-FREON

Thérapie combinée via des nanoémulsions pour un traitement optimisé du glioblastome.

Yasmine CHOKRY <sup>1,2</sup>, Anne-Claire GROO <sup>1</sup>, Samuel VALABLE <sup>#2</sup>, Auréli MALZERT-FRÉON <sup>#1</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UniCaen, CERMN, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> Normandie Univ, UniCaen, CNRS, ISTCT, GIP CYCERON, 14000 Caen, France

# Contribution équivalente entre les auteurs

Les glioblastomes (GBM) sont des tumeurs cérébrales malignes et agressives avec une médiane de survie de 15 mois. La faible efficacité des traitements actuels est notamment corrélée au microenvironnement de la tumeur caractérisé par trois composantes principales : l'hypoxie, la vascularisation imparfaite et l'inflammation essentiellement pro-tumorale (Macrophages (M $\Phi$ ) M2 pro-tumoraux / peu de lymphocytes cytotoxiques). Ces paramètres induisent une multirésistance du GBM et ainsi une résistance aux chimiothérapies. De plus, la présence de la barrière hémato-encéphalique (BHE), malgré son altération dans le cœur actif de la tumeur, limite également la diffusion des médicaments. Il paraît donc urgent de proposer une nouvelle approche thérapeutique enfin efficace aussi bien sur la tumeur que sur son microenvironnement qui est source de résistance au traitement.

Le projet émergent NEFECOMB, financé par le Cancéropôle Nord-Ouest en 2021, a fait l'objet des sujets de stage de M1 et M2 de Y. Chokry, co-encadrée par A. Malzert-Fréon, AC Groo (CERMN) et S. Valable (ISTCT).

La stratégie que nous avons souhaitée mettre en œuvre dans le cadre de ce projet, est basée sur l'utilisation de nanoémulsions de fénofibrate. En effet, le fénofibrate, proposé comme substance active repositionnée, est un agent lipophile hypolipémiant ayant montré des propriétés antitumorales dans plusieurs études *in vitro* et *in vivo*, et notamment en conditions d'hypoxie (Shi *et al.*, *Oncotarget* **2016**). La mise en œuvre de ce principe actif insoluble et incapable de franchir la BHE requiert une mise en forme galénique optimale comme les nanoémulsions (NEs) (Séguy *et al.*, *Pharmaceutics* **2020**). Afin d'améliorer la stabilité des NEs et faire face à la composante inflammatoire de la tumeur, il est possible de combiner les NEs de fénofibrate à des nanoparticules d'oxydes de fer (Superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPIONs). Ces dernières présentent la propriété de rééduquer les M $\Phi$  associés aux tumeurs (TAM) d'un phénotype M2 pro-tumoral vers un phénotype M1 anti-tumoral. En adsorbant les SPIONs aux NEs de fénofibrate, il serait par ailleurs possible de mieux maîtriser la stabilité au stockage de ces dernières.

Ainsi, le projet NEFECOMB visait à démontrer l'intérêt des outils nanotechnologiques innovants pour l'utilisation d'un repositionnement de principe actif (fénofibrate) pour le traitement des gliomes, utilisé seul ou en combinaison avec des agents théranostiques (SPIONs) pour favoriser la repolarisation des macrophages associés aux tumeurs et ainsi potentialiser l'activité anti-GBM. A terme, ces nanomédicaments seront destinés à être administrés par voie locale par Convection-enhanced Delivery (CED), approche permettant d'imprégner plus largement le tissu tumoral et de favoriser l'efficacité du traitement.

**Mots clés : Glioblastome, Nanoémulsions, Repositionnement, Stratégie combinée, Hypoxie**

NOTES





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Frederik CROP

Métrieologie de l'IRM quantitative : la diffusion & perfusion.

F. Crop<sup>1</sup>, C. Robert<sup>1</sup>, R. Viard<sup>2,3</sup>, J. Dumont<sup>2,3</sup>, X Mirabel<sup>4</sup>, L. Ceugnart<sup>5</sup>, X Liem<sup>4</sup>, D Pasquier<sup>4</sup>, O Guillaud<sup>5</sup>, C Decoene<sup>1</sup>, and T Lacornerie<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Physique Médicale, Centre Oscar Lambret

<sup>2</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41 - UAR 2014 - PLBS

<sup>3</sup> Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1172 - LiNCog - Lille Neuroscience & Cognition, F-59000 Lille, France

<sup>4</sup> Academic Department of Radiotherapy, Centre Oscar Lambret, Lille, France

<sup>5</sup> Radiology, Centre Oscar Lambret, Lille, France

**Introduction :** Autant les images scanner CT sont « quantifiées » en termes de nombre Hounsfield (HU), autant les images « standards » d'IRM représentent des signaux non quantifiés (« pondération » T1, T2...). Il existe plusieurs techniques de quantification en IRM : cartographie de T1, cartographie de T2, densité de protons, diffusion, perfusion ... Le problème majeur réside dans le fait que ces quantifications sont associées à de fortes incertitudes, dont certaines sont parfois inconnues.

Dans le cadre de ce projet, deux techniques d'IRM quantitatif ont été étudiées : (1) l'IRM de diffusion qui quantifie la mobilité des molécules d'eau, paramètre lié à la « cellularité ». (2) l'IRM de perfusion qui essaye de quantifier les flux entre les tissus, les vaisseaux et l'espace extracellulaire extravasculaire par exemple.

**Matériel & méthodes :** Les performances de différentes techniques de diffusion en termes notamment d'efficacité de Signal sur Bruit, d'artéfacts, de distorsions ont d'abord été quantifiées in vitro sur différents IRM (Siemens Sola 1.5T, Siemens Vida 3T, Philips Achieva 3T) en appliquant différentes techniques d'acquisition: Echo Planar Imaging, small Field-of-View techniques et des techniques orientés pour réduire les distorsions (RESOLVE & SPLICE TSE). Pour réaliser ses investigations, le fantôme NIST de diffusion standard a été utilisé. Il contient des inserts « étalonnés » en terme de Apparent Diffusion Coefficient (ADC). Par la suite, une étude in vivo a été menée.

Ce travail a été suivi par une quantification des incertitudes pour l'IRM de perfusion. Il y a d'abord eu une évaluation de la cartographie T1 en présence des flux (pour l'AIF : Arterial Input Function), puis une évaluation de la performance des techniques de perfusion en utilisant un fantôme de perfusion.

**Résultats:** Alors que les incertitudes pour le calcul de l'ADC in vitro étaient faibles ( $\pm 0.03 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), l'incertitude in vivo était d'un ordre de grandeur plus important  $\pm 0.3 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ . Quant à elle, la technique « small field of view » permettait d'obtenir dans la plupart des cas un compromis entre l'efficacité d'acquisition et la réduction partielle des artéfacts hormis pour les localisations Tête et Cou.

Pour l'IRM de perfusion, différentes corrections nécessaires ont été identifiées comme la cartographie T1 en présence des flux.

**Conclusion :** Le projet a permis de se spécialiser dans l'IRM quantitatif avec notamment une publication en cours de révision et il sera poursuivi dans le cadre d'un nouvel appel à projets.

**Mots clés : IRM quantitatif**

NOTES





## Projet émergent Cancéropôle Nord-Ouest

Benoît MONTALAN

Études sur les réactions publiques aux stigmates de la laryngectomie totale.

Benoît MONTALAN, Centre de Recherches sur les Fonctionnements et Dysfonctionnements Psychologiques (CRFDP EA 7475), Univ. de Rouen Normandie

Virginie BEAUCOUSIN, Centre de Recherches sur les Fonctionnements et Dysfonctionnements Psychologiques (CRFDP EA 7475), Univ. de Rouen Normandie

Jessica MANGE, Laboratoire de Psychologie de Caen Normandie (LPCN EA 7452), Univ. de Caen Normandie

Pauline RASSET, Laboratoire de Psychologie de Caen Normandie (LPCN EA 7452), Univ. de Caen Normandie

Alexis PAYEN, Centre de Recherches sur les Fonctionnements et Dysfonctionnements Psychologiques (CRFDP EA 7475), Univ. de Rouen Normandie

Emmanuel BABIN, Service ORL du CHU de Caen, Univ. de Caen Normandie

Dans le traitement des cancers du larynx, la laryngectomie totale (LT) consiste en l'ablation du larynx et des cordes vocales. Il s'agit d'un traitement essentiel pour les patients présentant un stade avancé de cancer du larynx. Cette intervention est cependant hautement mutilante sur le plan fonctionnel mais également sur le plan social. Par exemple, une étude réalisée en 2010 a montré que seul un tiers des patients présentant une LT participait régulièrement à des activités sociales et plus de 40% d'entre eux rapportaient avoir moins d'échanges verbaux depuis leur opération (Danker et al., 2010). Les répercussions sociales de la LT résulteraient en partie d'un phénomène de stigmatisation, la voix de substitution et la présence d'un trou au milieu du cou – le trachéostome, constituant à cet égard deux stigmates (i.e. des caractéristiques socialement dévaluées ; Goffman, 1963). Si nombre de travaux ont étudié le vécu de cette stigmatisation pour en étudier l'impact sur la qualité de vie des personnes laryngectomisées – le *self-stigma* (Pryor & Reeder, 2011), peu d'entre eux se sont intéressés à caractériser les réactions affectives, cognitives et comportementales auxquelles les personnes avec LT sont confrontées, i.e. la stigmatisation publique de la LT (*public stigma* ; Pryor & Reeder, 2011).

Pour répondre à cet objectif, plusieurs études ont et seront réalisées dans le cadre du présent projet Emergent. Seules les deux premières études portant sur les réactions affectives feront l'objet de cette communication. La première étude (N = 92) visait, d'une part, à souligner à l'aide d'une consigne standard et d'une échelle auto-rapportée d'affects (i.e. la sympathie, l'embaras, la surprise, la malveillance, le dégoût et la neutralité ; Rasset et al., 2022) l'existence de réactions stigmatisantes aux séquelles de la LT et ce, en fonction de la modalité de perception du stigmate (i.e. auditive pour la voix de substitution et visuelle pour le trachéostome). Globalement, les résultats n'ont pas permis de révéler de réactions stigmatisantes aux séquelles de la LT. Seule la révélation du stigmate vocal a généré une augmentation des réactions positives (i.e. la sympathie) et ce, en raison d'un probable biais de désirabilité sociale. Dans la continuité de la précédente étude, la seconde étude (N = 154) s'est focalisée sur les réactions affectives aux voix de substitution via la même échelle auto-rapportée (Rasset et al., 2022). Il s'agissait, d'une part, d'atténuer l'éventuel biais de désirabilité sociale observé dans la première étude en recourant à une consigne de substitution et de tester le rôle potentiellement modérateur des causes (i.e. une consommation tabagique et alcoolique pour la cause contrôlable VS une maladie génétique pour la cause non-contrôlable) à l'origine du stigmate. Dans un premier temps, le recours à une consigne de substitution a permis d'atténuer le biais de désirabilité sociale et de révéler en conséquence des réactions stigmatisantes à l'endroit des voix de substitution. Dans un second temps, certaines de ces réactions (i.e. la surprise et le dégoût) se sont avérées être amplifiées suite à l'évocation d'une cause perçue comme contrôlable (i.e. une consommation tabagique et alcoolique).

Ces résultats seront discutés au regard de leur implication pratique dans l'accompagnement des personnes laryngectomisées (e.g., via leur sensibilisation au phénomène de stigmatisation) et des perspectives de recherche futures envisagées.

**Mots clés : Larynx, laryngectomie totale, stigmate, handicap, qualité de vie**





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.

14 projets financés (2016-2022)

50 à 100 K€ par projet

1,3 M€ investis

**EFFET LEVIER**

Plus de 2 M€ obtenus jusqu'à présent.





## Projet Structurant Cancéropôle Nord-Ouest

Lydia GUITTET

### Enjeux et difficultés de l'évaluation des actions visant à améliorer la détection des cancers de la cavité buccale et de l'oropharynx.

GUITTET L.<sup>1,2,3</sup>, Guizard AV.<sup>1,4</sup>, Lapôtre-Ledoux B.<sup>5</sup>, Bara S.<sup>6</sup>, Dejardin O.<sup>1,2</sup>, Babin E.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Inserm U1086 ANTICIPE,

<sup>2</sup> CHU de Caen

<sup>3</sup> Université Caen Normandie

<sup>4</sup> Centre François Baclesse, Registre Général des tumeurs du Calvados

<sup>5</sup> CHU d'Amiens, Registre du Cancer de la Somme

<sup>6</sup> Centre Hospitalier Public du Cotentin (Cherbourg), Registre Général de la Manche

Malgré l'amélioration constante des thérapeutiques, les cancers des voies aérodigestives supérieures (VADS) demeurent des cancers dont la létalité est importante et intimement liée au stade de découverte (par exemple les cancers de la cavité buccale ont une survie à 5 ans d'environ 45% pour les stades localisés contre 25% pour les stades avancés).

Du fait de la rareté des cancers de la cavité buccale et de l'oropharynx en population générale, les généralistes rencontrent peu de cas au cours de leur carrière. Les dentistes, plus au fait des lésions de la cavité buccale, sont peu consultés par les patients à haut risque de cancer VADS. Malgré l'augmentation de l'incidence des cancers de l'oropharynx liés au statut HPV, l'exposition au tabac et à l'alcool reste aujourd'hui la cause majeure de ces cancers, et le seul facteur de risque identifiable au cours d'une consultation de médecine générale.

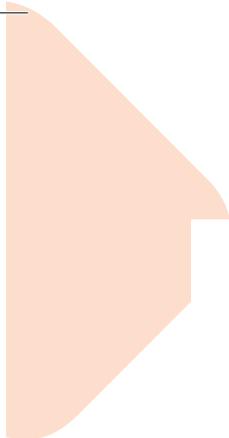
Le but de l'étude DECIBEL était de produire et évaluer un outil de formation en ligne destiné en priorité aux médecins généralistes insistant sur l'intérêt de l'inspection visuelle de la cavité buccale auprès des patients ayant une consommation importante de tabac et/ou d'alcool et donc à haut risque de ces cancers, dans l'objectif d'améliorer le stade au diagnostic des patients atteints d'un cancer de la cavité buccale ou de l'oropharynx.

L'outil de formation a été finalisé en 2022. Cet outil de formation en ligne comprend notamment une vidéo, volontairement courte (2 minutes), montrant comment réaliser l'examen de la cavité buccale simplement, avec le matériel disponible dans un cabinet de médecine générale, ainsi qu'une galerie d'images suspectes. Le site n'est pas référencé dans Google, afin de maîtriser au maximum sa diffusion sur la 1<sup>ère</sup> année de son ouverture. La communication concernant la mise en ligne de ce site a été réalisée auprès de l'ensemble des médecins généralistes du territoire de Normandie occidentale, au moyen d'un courrier postal adressé par l'Union Régionale des Médecins Libéraux début 2023.

Le schéma expérimental proposé était une étude quasi-expérimentale de type « ici-ailleurs » / « avant-après ». Grâce aux registres de cancers des départements concernés, les données cliniques de 405 cas incidents de cancers de la cavité buccale et de l'oropharynx détectés en 2018 et 2019 (période « avant ») dans les départements de la Manche, du Calvados et de la Somme ont pu être collectées. La moitié des cas ont été détectés à un stade avancé. Un antécédent d'exposition actuelle ou sevrée était retrouvé chez 88% des patients pour le tabac, et 79% pour l'alcool (donnée manquante pour 5% des patients pour le tabac, et 11% pour l'alcool). L'analyse des caractéristiques et de la survie de ces cas incidents permettra de réactualiser les connaissances sur les situations du diagnostic de ces tumeurs, près de 10 ans après l'étude réalisée par les registres dans la même région. Cependant l'ambition de l'évaluation de notre intervention doit être ajustée, du fait de la difficulté à maîtriser les sources de variabilité, notamment en période COVID, mais aussi à trouver des financements pour une évaluation en population générale sur une pathologie grave mais très peu fréquente.

**Mots clés : Cancer VADS - Détection précoce - Méthodologie**





# SESSION

## JEUNES CHERCHEURS



# Concours des 3 meilleures Communications orales





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Julie AUWERCX

### 1) Le domaine kinase de TRPM7 : un acteur impliqué dans la migration, l'invasion et la TEM des cellules cancéreuses pancréatiques humaines.

Julie AUWERCX<sup>1</sup>, Bernadette NEVE<sup>2</sup>, Alison VANLAEYS<sup>1</sup>, Sylvie BRASSART-PASCO<sup>3</sup>, Mathilde FOURGEAUD<sup>1</sup>, Mouloud SOUIDI<sup>2</sup>, Stéphanie GUÉNIN<sup>4</sup>, Philippe KISCHEL<sup>1</sup>, Isabelle DHENNIN-DUTHILLE<sup>1</sup>, Laurent GUTIERREZ<sup>4</sup>, Isabelle VAN SEUNINGEN<sup>2</sup>, Nicolas JONCKHEERE<sup>2</sup>, Mathieu GAUTIER<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277—CANTHER—Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

<sup>3</sup> UMR CNRS 7369 Matrice Extracellulaire et Dynamique Cellulaire (MEDyC), Université de Reims Champagne Ardenne (URCA), Reims, France

<sup>4</sup> Centre de Ressources Régionales en Biologie Moléculaire, Université de Picardie Jules Verne, F-80039 Amiens, France

**Introduction :** L'adénocarcinome canalaire pancréatique (ACP) représente la forme majoritaire de cancer du pancréas. Il est actuellement classé en 7ème position en termes de mortalité par cancer dans les pays industrialisés mais est en passe de devenir le 2ème d'ici 2030. Ces prédictions sont dues à un pronostic très sombre avec un taux de survie à 5 ans inférieur à 10%. Ce faible taux de survie s'explique en partie par la capacité des cellules cancéreuses pancréatiques à former des métastases. La formation et la dissémination des métastases se font selon une séquence d'événements appelée cascade métastatique. La migration et l'invasion cellulaires sont des étapes fondamentales de la cascade métastatique et font intervenir des modifications morphologiques et fonctionnelles de la cellule cancéreuse. La compréhension de ces processus est cruciale pour le développement de stratégies diagnostiques et de traitement dans la lutte contre l'ACP.

Dans ce cadre, la protéine TRPM7 (*Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 7*), ayant la particularité d'exercer des fonctions de canal cationique non-sélectif mais également de kinase, a été identifiée comme surexprimée de nombreux cancers, tels que le cancer du sein, du colon, des poumons ou encore dans le glioblastome. En effet, le canal TRPM7 est essentiel pour la régulation de l'homéostasie du magnésium ou dans des processus tels que l'embryogenèse ou la survie cellulaire, mais de nombreuses études l'ont également décrit comme un acteur important de la prolifération, de la migration ou de l'invasion cellulaire dans ces différents cancers. Notre équipe a été une des premières à démontrer une surexpression de TRPM7 dans les tissus cancéreux pancréatiques, une corrélation positive au grade du cancer, ainsi que son rôle dans la migration et l'invasion cellulaire, faisant de TRPM7 un potentiel marqueur de mauvais pronostic dans le cancer du pancréas. Toutefois, si le rôle du canal TRPM7 dans ces processus a été étudié, l'implication du domaine kinase dans le cancer du pancréas n'est toujours pas décrit.

**Objectif :** Ce travail a pour objectif d'élucider in vitro le rôle du domaine kinase de TRPM7 dans les capacités de migration, d'invasion et de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) des cellules cancéreuses pancréatiques ainsi que d'identifier des voies de signalisation impliquées dans ces mécanismes.

**Méthodologie et résultats :** Les cellules cancéreuses humaines pancréatiques PANC-1 ont été modifiées par CRISPR-Cas9 pour obtenir un modèle de délétion endogène du domaine kinase de TRPM7 (PANC-1 ΔK). Nous avons caractérisé ce modèle, en démontrant tout d'abord que l'absence du domaine modifie la sensibilité du canal au Mg<sup>2+</sup> lié à l'ATP (MgATP) sans modifier sa sensibilité au Mg<sup>2+</sup> libre. L'absence du domaine kinase entraîne une diminution de la migration de 71,3±2,1 % ( $p < 0,001$ ) mais également de l'invasion de 87,9±2,8% ( $p < 0,001$ ) des cellules PANC-1. Nous avons également montré que la délétion du domaine kinase entraînait une augmentation de l'expression de la cadhérine E de 261,1±63,4% ( $p < 0,001$ ) ainsi qu'une diminution de l'expression de la vimentine de 34,5±12,4% ( $p < 0,05$ ). En étudiant différentes protéines décrites dans les mécanismes d'invasion et de migration, il a pu être observé que la délétion du domaine kinase entraînait une diminution de l'expression de la phosphorylation de FAK et des protéines RhoA, Paxiline, PAK1 et RAC avec notamment une inhibition de 96,8±13,3% ( $p < 0,001$ ) de l'expression protéique de RAC.

**Conclusion :** Ces premiers résultats démontrent pour la première fois le rôle de la kinase de TRPM7 dans les propriétés de migration et d'invasion des cellules humaines cancéreuses pancréatiques pouvant impliquer la voie de signalisation RAC. Ensemble, ces résultats suggèrent le domaine kinase de TRPM7 comme potentielle cible thérapeutique dans l'ACP.

**Mots clés :** cancer du pancréas, TRPM7, domaine kinase, métastases, migration, invasion, TEM, RAC





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Léa BODIN

### 2) Thérapie Photodynamique ciblée utilisant un photosensibilisateur vectorisé couplé à un analogue de l'acide folique : Une nouvelle thérapie capable de traiter la carcinose péritonéale ovarienne et de stimuler une réponse immunitaire effectrice.

Léa BODIN<sup>1</sup>, Morgane MOINARD<sup>2</sup>, Margaux MERLIER<sup>1</sup>, Martha BAYDOUN<sup>1</sup>, Laurine ZIANE<sup>1</sup>, Guillaume GROLEZ<sup>1</sup>, Yohann KERBAGE<sup>1,3</sup>, Olivier MORALES<sup>1,4</sup>, Samir ACHERAR<sup>5</sup>, Céline FROCHOT<sup>2</sup>, Nadira DELHEM<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ.Lille, Inserm, CHU Lille, U1189-ONCO-THAI – Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, F 59000 Lille, France

<sup>2</sup> Université de Lorraine, UMR 7274 CNRS, Laboratoire réactions et génie des procédés, 54000 Nancy, France

<sup>3</sup> Hôpital Jeanne de Flandres, CHRU de Lille, avenue Eugène Avinée, 59000 Lille, France

<sup>4</sup> CNRS UMS 3702 IBL, F 59000 Lille, France

<sup>5</sup> CNRS, Université de Lorraine, Laboratoire de Chimie-Physique Macromoléculaire (LCPM), UMR 7375, 54000 Nancy, France

**Introduction :** Le traitement standard de la carcinose péritonéale ovarienne (CPO) n'épargne pas la survenue de récidives qui affectent 60% des patientes. Afin d'améliorer leur pronostic, la Thérapie Photodynamique (PDT) pourrait être utilisée à condition de développer un photosensibilisateur (PS) vectorisé permettant de cibler spécifiquement les lésions microscopiques intrapéritonéales à l'origine des rechutes. Le récepteur aux folates  $\alpha$  (FR $\alpha$ ) est un récepteur surexprimé dans la CPO faisant de lui une cible idéale pour la conception de PS conjugués à l'acide folique (AF). Cependant, il est primordial d'intégrer la question de la dégradation de l'AF. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de proposer une PDT utilisant un PS couplé à analogue de l'acide folique (AAF) plus stable, comme nouvelle thérapie adjuvante dans le traitement de la CPO. Ainsi, nous avons évalué la capacité de ce nouvel agent ciblant FR $\alpha$  à induire à la fois un traitement PDT et une réponse immunitaire anti-tumorale.

**Méthodes :** La synthèse de l'AAF a été réalisée en apportant des modifications chimiques basées sur notre expertise en synthèse et modélisation moléculaire. Cet AAF a été couplé à un PS, le pyropheophorbide-a. Les propriétés photophysiques de l'AAF seul ou de l'AAF couplé au pyropheophorbide (PS<sup>AAF</sup>) ont été étudiées dans l'EtOH (spectre d'absorption et d'émission, production d'oxygène singulet et demi-vie, fluorescence) et réalisées grâce à notre collaboration avec le laboratoire LRGP. Afin d'évaluer la capacité de ce PS à induire un effet PDT, nous avons développé un dispositif d'illumination de longueur d'onde d'excitation spécifique au PS (672 nm). Les études *in vitro* ont été réalisées sur des lignées cellulaires de CPO (OVCAR3 et SKOV3) présentant une forte expression de FR $\alpha$  et comparées à des cellules HT1080 (fibrosarcome) ayant une faible expression de FR $\alpha$ . L'innocuité de ce PS et son habilité à induire la mort des cellules cancéreuses après illumination a été évaluée à l'aide d'un test de viabilité basé sur l'ATP (CellTiter-Glo®). Enfin, nous avons évalué si les cellules cancéreuses étaient capables après la PDT de promouvoir l'activation des cellules immunitaires humaines via l'analyse de leur sécrétome (tests ELISA) et l'impact de ce sécrétome sur la prolifération de PBMCs humaines (3H tritiée).

**Résultats :** Les propriétés photophysiques du PS<sup>AAF</sup> ont montré une similarité avec celles du pyropheophorbide-a seul, suggérant que le couplage n'altère pas les propriétés physiques du PS. L'incorporation du PS<sup>AAF</sup> au sein des cellules cancéreuses a été évaluée grâce à ses propriétés de fluorescence. Le temps d'incubation permettant une incorporation maximale du PS<sup>AAF</sup> dans les cellules surexprimant FR $\alpha$  (OVCAR3; SKOV3) avant la réalisation de la PDT a été fixé à 24h. Le ciblage de FR $\alpha$  a été évalué par une expérience de compétition PS<sup>AAF</sup>-AF. Les résultats ont montré une diminution de l'intensité de fluorescence lorsque le temps d'incubation avec l'AF augmente validant la sélectivité du PS<sup>AAF</sup> pour FR $\alpha$ . De plus, nous avons noté une absence de toxicité à l'obscurité du PS<sup>AAF</sup> sur les lignées cellulaires tandis qu'après illumination une diminution de la viabilité des cellules a été observée. La sélectivité a été démontrée via l'induction d'une mort cellulaire selon un effet dose dépendant de sa concentration, de la dose de lumière et de l'expression de FR $\alpha$ . Enfin, l'analyse des surnageants des cellules après PDT a montré une diminution de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et immunosuppressives (TGF $\beta$ , IL6) ainsi qu'une induction de cytokine effectrice (IFN $\gamma$ ). De plus, sa mise en co-culture avec des PBMCs humaines semble en favoriser leur prolifération.

**Conclusion :** Jusqu'à aujourd'hui, la PDT a montré certaines limites lors de son application clinique en raison des effets secondaires liés au manque de sélectivité des PS. Cependant, nous avons synthétisé un nouveau PS utilisant un AAF assurant le ciblage des cellules cancéreuses surexprimant FR $\alpha$ . Par conséquent, ce travail a montré qu'une thérapie par PDT-PS<sup>AAF</sup> pouvait être efficace dans le traitement de la CPO. De plus, cette thérapie semble promouvoir une réponse immunitaire effectrice assurant une efficacité sur le long. Un traitement adjuvant comme la PDT permettant d'éliminer la tumeur et de stimuler l'immunité anti-tumorale devrait ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques dans un cancer actuellement en impasse thérapeutique.

**Mots clés :** Thérapie Photodynamique, Photosensibilisateur vectorisé, Acide Folique, Carcinose Péritonéale Ovarienne





## Session Jeunes chercheurs

### Communications orales

François CHERIFI

### 3) The promising prognostic value of vagal nerve activity at the initial management of ovarian cancer.

François CHERIFI<sup>1,2</sup>, Sophie LEFEVRE ARBOGAST<sup>1</sup>, Jonaz FONT<sup>3</sup>, Cyril ABDEDDAIM<sup>4</sup>, Stephanie BECOURT<sup>4</sup>, Nicolas PENEL<sup>4</sup>, Elodie COQUAN<sup>1,2</sup>, Justine LEQUESNE<sup>1</sup>, Yori GIDRON<sup>5</sup>, Florence JOLY<sup>2,6</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Research, Centre Francois Baclesse, Caen, France

<sup>2</sup> Department of Medical Oncology, Centre François Baclesse, Caen, France

<sup>3</sup> Department of Cardiology, Centre Hospitalier Universitaire de Caen

<sup>4</sup> Department of Medical Oncology, Centre Oscar Lambret, Lille, France

<sup>5</sup> Department of Nursing, Faculty of Health Sciences, Haifa University, Haifa, Israel

<sup>6</sup> Normandie Université, UNICAEN, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm) U1086, ANTICIPE, Caen, France

**Objective:** Identifying new modifiable prognostic markers is important for ovarian cancer (OC). Low parasympathetic activity is associated with inflammation, oxidative stress and sympathetic nervous system activation. Previous studies reported that low vagal nerve activity, measured by low heart rate variability (HRV), may predict poor cancer prognosis. We aimed to examine the prognostic value of HRV in OC.

**Methods:** This bicentric retrospective study included patients diagnosed with serous OC FIGO stage  $\geq$ IIb, between January 2015 and August 2019, with electrocardiograms (ECG) available around diagnosis. HRV was measured from ECG using the time domain parameter of standard deviation of all normal-to-normal heartbeat intervals (SDNN). Optimal SDNN cut-off was determined using the Youden index criteria of time-dependent ROC curves. We used multivariate cox proportional hazard models to investigate the association between HRV and overall survival (OS), while adjusting for well-known OC prognostic factors.

**Results:** The 202 patients included were 65.7 years-old on average, 93% had stage FIGO IIIc/IV, 56% had complete surgical resection. Median OS was 38.6 months [95%CI:34.4-47.4]. The median SDNN was 11.1ms, with an optimal cut-off of 10ms to predict OS. OS was shorter for patients with low HRV compared to high HRV (26.4 vs 45.1 months;  $p < 0.001$ ). In multivariate analysis, HRV remained an independent prognostic factor with a two-fold higher risk of death among patients with low SDNN compared to those with high SDNN (HR=2.03, 95%CI=1.35-3.06,  $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Low HRV, was associated with worse OS in OC patients, supporting previous studies on the prognostic role of HRV in cancer. If replicated in prospective studies, vagal nerve activity may be a new therapeutic target in OC.

**Mots clés :** *vagus nerve, ovarian cancer, heart rate variability (HRV), overall survival, autonomic nervous system, prognostic factor and survival, Parasympathetic activity*

NOTES





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Corentin LEVACHER

### 4) SEALigHTS : une innovante approche ciblée à haut-débit pour l'étude des ARN messagers et des ARN circulaires.

Corentin LEVACHER<sup>1</sup>, Françoise CHARBONNIER<sup>1</sup>, Jeanne LOUIS<sup>1</sup>, Hugo THORN<sup>1</sup>, Charbonnier CAMILLE<sup>1</sup>, Mathieu VIENNOT<sup>2</sup>, Sophie COUTANT<sup>1</sup>, Jean-Christophe THÉRY<sup>2</sup>, Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE<sup>1</sup>, Marick LAÉ<sup>2,3</sup>, Stéphanie BAERT-DÉSURMONT<sup>1,4</sup>, Philippe RUMINY<sup>2</sup>, Claude HOUDAYER<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>INSERM U1245, Normandie Univ, UNIROUEN, Cancer and Brain Genomics, FHU-G4 Génomique, Rouen, France

<sup>2</sup>INSERM U1245, Cancer Center Henri Becquerel, University of Normandy, UNIROUEN, FHU-G4 Génomique, Rouen, France

<sup>3</sup>Department of Pathology, Cancer Center Henri Becquerel, University of Normandy, UNIROUEN, Rouen, France

<sup>4</sup>Department of Genetics, Cancer and Brain Genomics, Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM U1245 and Rouen University Hospital, FHU-G4 Génomique, Rouen, France

L'étude de l'ARN messager (ARNm) est essentielle à la compréhension des processus physiologiques et pathologiques, tant dans le développement que dans la cancérogenèse. Son étude est actuellement limitée par le faible débit des approches ciblées (par exemple RT-PCR et Sanger) ou le coût et l'expertise nécessaire élevés des approches à haut débit (RNAseq). C'est pourquoi nous avons développé la nouvelle approche SEALigHTS (Splice and Expression Analyses by exon Ligation and High Throughput Sequencing) permettant l'exploration simultanée de toutes les jonctions exon-exon sur un panel de gènes d'intérêt, grâce à des sondes conçues aux extrémités des exons. Après rétrotranscription, hybridation sur l'ADN complémentaire et ligation des sondes, le nombre de ligations est quantifié à l'aide d'UMI (identifiants moléculaires uniques). SEALigHTS a d'abord été validée sur 282 échantillons d'ARN portant différentes anomalies génomiques (délétion, duplication ou variation ponctuelle) et préalablement validées par une approche de référence. Ensuite, nous avons exploré l'épissage physiologique et pathologique de 45 gènes de prédisposition au cancer pour 1553 échantillons d'ARN provenant de sources diverses (895 tubes de sang Paxgene, 107 cellules mononucléaires cultivées de sang périphérique, 55 lignées cellulaires lymphoblastoïdes, 142 sang frais congelé et 354 tissus mammaires, ovariens et salpingiens fixés au formol et inclus en paraffine). Les anomalies d'épissage, les différences d'épissage physiologiques, mais aussi les niveaux d'expression entre les gènes ont été caractérisés. De plus, SEALigHTS permet l'analyse des ARN circulaires, produits par back-splicing, dont l'importance est de plus en plus documentée. En pratique, l'étude de l'épissage, du back-splicing et de l'expression pour 80 patients et 45 gènes prend deux jours avec un coût de consommables, séquençage compris, de 28 euros par échantillon. SEALigHTS, qui utilise des panels de sondes personnalisés, peut facilement être mis en œuvre dans les laboratoires, dans la recherche et dans le diagnostic.

**Mots clés : SEALigHTS ; ARN messagers ; ARN circulaires ; Séquençage haut-débit**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

### Communications orales

Floriane RACINE

#### 5) The tumor coagulome as a transcriptional target and a potential effector of glucocorticoids in human cancers.

Floriane RACINE<sup>1</sup>, Christophe LOUANDRE<sup>2</sup>, Corinne GODIN<sup>1,2</sup>, Baptiste CHATELAIN<sup>2</sup>, Stefan PREKOVIC<sup>3,4</sup>, Wilbert ZWART<sup>3,5</sup>, Antoine GALMICHE<sup>1,2</sup>, Zuzana SAIDAK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UR7516, CHIMERE, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

<sup>2</sup> Service de Biochimie, Centre de Biologie Humaine, CHU Amiens, France

<sup>3</sup> Netherlands Cancer Institute (NKI), Amsterdam, Netherlands

<sup>4</sup> Center for Molecular Medicine, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Netherlands

<sup>5</sup> Laboratory of Chemical Biology and Institute for Complex Molecular Systems, Department of Biomedical Engineering, Eindhoven University of Technology, Eindhoven, The Netherlands

#### Background:

The coagulome, defined as the repertoire of genes that locally regulate coagulation and fibrinolysis, is a key determinant of vascular thromboembolic complications of cancer. In addition to vascular complications, the coagulome may also regulate the tumor microenvironment (TME). Glucocorticoids are key hormones that mediate cellular responses to various stresses and exert anti-inflammatory effects. We addressed the effects of glucocorticoids on the coagulome of human tumors by investigating interactions with Oral Squamous Cell Carcinoma, Lung and Pancreatic Adenocarcinoma tumor types.

#### Methods:

We analyzed the regulation of three essential coagulome components, i.e. the tissue factor (TF), urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in cancer cell lines exposed to specific agonists of the glucocorticoid receptor (GR) (dexamethasone, hydrocortisone). We used QPCR, immunoblots, small-interfering RNA, Chromatin immunoprecipitation-sequencing (ChIPseq) and genomic data from whole tumor and single-cell analyses.

#### Results:

Glucocorticoids modulate the coagulome of cancer cells through a combination of indirect and direct transcriptional effects. Dexamethasone directly increased PAI-1 expression in a GR-dependent manner. We confirmed the relevance of these findings in human tumors, where high GR-activity/high *SERPINE1* expression corresponded to a TME enriched in active fibroblasts and a high TGF- $\beta$  response.

#### Conclusion:

The transcriptional regulation of the coagulome by glucocorticoids that we report may have vascular consequences and account for some of the effects of glucocorticoids on the TME.

**Mots clés : Glucocorticoids, Tumor coagulome, Tumor microenvironment**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Claire DEGAND

### 6) La capacité de réserve mitochondriale : Un nouveau biomarqueur métabolique prédictif de l'agressivité de la Leucémie Aiguë Myéloïde.

Claire DEGAND<sup>1</sup>, Quentin FOVEZ<sup>1</sup>, Patrick DEVOS<sup>2</sup>, Laure GOURSAUD<sup>1,3</sup>, Céline BERTHON<sup>1,3</sup>, Axel CHOMY<sup>1</sup>, William LAINE<sup>1</sup>, Nicolas GERMAIN<sup>1,4</sup>, Claude PREUDHOMME<sup>1,4</sup>, Philippe MARCHETTI<sup>1,4</sup>, Bruno QUESNEL<sup>1,3</sup>, Jean-Emmanuel SARRY<sup>5</sup>, Jérôme KLUZA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-UMR-S 1277-Canther-Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

<sup>2</sup> Univ. Lille, CHU Lille, ULR 2694 - METRICS: Évaluation des technologies de santé et des pratiques médicales, F-59000, Lille, France.

<sup>3</sup> Département d'hématologie, CHU Lille, F-59000 Lille, France.

<sup>4</sup> Centre de Bio-Pathologie, CHU Lille, F-59000 Lille, France.

<sup>5</sup> Centre National de la Recherche Scientifique, Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université de Toulouse, 31100 Toulouse, France.

**Introduction :** La persistance des cellules leucémiques après traitement limite l'efficacité des médicaments anticancéreux et est à l'origine des rechutes chez les patients atteints de leucémie aiguë myéloïde (LAM). Après exposition aux traitements conventionnels, la survie des cellules leucémiques persistantes est soutenue principalement par le métabolisme énergétique mitochondrial. Plusieurs études précliniques ont montré que l'association d'inhibiteurs de la phosphorylation oxydative mitochondriale avec des traitements anticancéreux constitue une combinaison thérapeutique efficace *in vitro* pour éradiquer les cellules leucémiques survivantes. L'évaluation de l'activité bioénergétique des blastes de patients atteints de LAM pourrait donc fournir des informations prédictives sur le pronostic de la pathologie et aider les cliniciens dans la prise en charge thérapeutique des patients.

**Méthodes :** En utilisant l'oxymètre fluorométrique XFe24 Seahorse, nous avons déterminé la consommation d'oxygène mitochondrial et l'activité glycolytique des blastes de patients atteints de LAM au moment du diagnostic. Toutes les mesures ont été évaluées à partir d'échantillons de sang périphérique fraîchement prélevés à l'hôpital de Lille (n=38) ou de Toulouse (n=31) de 2018 à 2023. Nous avons utilisé un protocole optimisé et validé pour déterminer *ex vivo* l'organisation métabolique des blastes des patients (Fovez et al., 2021). Le taux de consommation d'oxygène mitochondrial (OCR) et le taux d'acidification extracellulaire (ECAR), qui est un indicateur en temps réel de la glycolyse, ont été évalués à partir de blastes cultivés dans un milieu supplémenté en cytokines pour éviter le stress après la cryoconservation et pour maintenir les blastes dans des environnements similaires avant la mesure. Les variables suivantes seront collectées : OCR basal, ATP Turnover, Proton Leak, Capacité de Réserve Mitochondrial (SRC), Glycolyse basale et Glycolyse maximale et ont été évaluées comme biomarqueurs prédictifs de la progression de la maladie par des approches statistiques.

**Résultats :** Nous déterminons les paramètres prédictifs (quantitatifs ou qualitatifs) en utilisant une méthodologie en plusieurs étapes : (1) Estimation, à l'aide du modèle de Cox, de la relation entre chaque variable et la survie globale. Les ratios de risque seront fournis avec leurs intervalles de confiance à 95%. (2) Pour les variables numériques significatives à 20%, recherche d'un seuil optimal permettant de maximiser le hazard ratio et donc le lien avec la survie globale. Discretisation des variables en 2 classes. (3) Recherche d'un sous-groupe de variables indépendantes les unes des autres et expliquant le mieux la survie globale. Utilisation du modèle pas à pas de Cox (méthode Backward) et des procédures Bootstrap. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel SAS. En utilisant cette analyse biostatistique (Hazard-ratio), nous avons trouvé que le SRC et l'activité glycolytique (évaluée comme ECAR basal) discriminaient les patients en deux groupes. Le groupe de patients dont les blastes étaient caractérisés par les valeurs les plus élevées de SRC et d'ECAR présentait une meilleure survie sans événement (EFS) et une meilleure survie globale (OS) que les patients dont les blastes présentaient d'autres phénotypes métaboliques.

**Conclusion :** Actuellement, la plupart des biomarqueurs cliniques utilisés pour prédire l'agressivité de la LAM sont basés sur des analyses cytogénétiques et moléculaires. Cependant, l'émergence de mutations n'est pas toujours associée à des changements phénotypiques. Cette étude montre que l'évaluation métabolique de la capacité de réserve mitochondriale des blastes associée à l'activité de la glycolyse représente un nouveau biomarqueur fonctionnel et pourrait aider les cliniciens à déterminer le pronostic de la LAM.

**Mots clés :** Biomarqueur, Leucémie, Mitochondrie, Métabolisme énergétique, Seahorse





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Marie-Océane  
LAGUILLAUMIE

### 7) Altérations de l'homéostasie calcique dans la dormance tumorale de leucémie myéloïde.

Marie-Océane LAGUILLAUMIE, Laboratoire CANTHER : UMR9020 CNRS – U1277 Inserm – Université de Lille – CHU de Lille

**Introduction :** Les leucémies myéloïdes sont des hémopathies malignes caractérisées par un arrêt de différenciation et une prolifération clonale de précurseurs myéloïdes appelés blastes. Malgré les traitements actuels, on observe une résurgence de la maladie dans plus de 50% des cas, pouvant être due à la survie de ces blastes qui échappent au système immunitaire et résistent aux thérapies : on parle de maladie résiduelle minimale (MRD).

Bien que le rôle de la signalisation calcique soit décrit dans de nombreuses fonctions cellulaires y compris tumorales, ses mécanismes restent peu élucidés dans le contexte de la MRD.

Orai1 est l'un des constituants des canaux SOC (Store-Operated Channels) qui représentent la principale voie d'entrée calcique dans les cellules non-excitables. Ce canal est activé grâce à son interaction avec le senseur calcique STIM1 (Stromal Interaction Molecule 1), et cela favorise une entrée de calcium dite capacitive dans la cellule après une vidange calcique réticulaire.

Dans des cellules cancéreuses de prostate ou de mélanome, la signalisation calcique peut être impliquée dans la prolifération cellulaire : mon laboratoire a mis en évidence une diminution de l'activité et de l'expression des canaux Orai1/SOC associée à une diminution de l'activité NFAT (Nuclear Factor of activated T-cells).

Mon projet consiste en l'étude de la dormance tumorale des cellules leucémiques afin de comprendre la signalisation calcique associée, en s'intéressant notamment aux canaux SOC.

**Matériel et méthodes :** Le modèle cellulaire de dormance tumorale leucémique murine a été élaboré par le laboratoire en intégrant le gène de fusion humain Bcr-Abl et récapitule la maladie chez la souris. Il comprend la lignée parentale M0 et la lignée de dormance J365 obtenue un an après injection chez la souris.

L'expression des canaux SOC (Orai1, Orai2, Orai3, STIM1 et STIM2) ainsi que celle des isoformes NFAT est étudiée au niveau ARNm par RT-qPCR, et protéique par Western Blot. Des tests fonctionnels (imagerie calcique et cytométrie en flux) sont menés pour évaluer l'homéostasie calcique des cellules parentales et de dormance, avec usage de siARNs spécifiques.

#### Résultats :

##### 1. Identification des acteurs calciques impliqués dans la signalisation calcique de nos modèles

Mes résultats aux niveaux ARNm et protéique valident la présence des protéines constitutives des canaux SOC dans les lignées M0 et J365.

L'étude transcriptomique révèle une surexpression des gènes des canaux Orai2 et Orai3, et des senseurs STIM dans la lignée J365 versus M0.

L'expression des différents isoformes de NFAT révèle une surexpression de NFATc1 et NFATc3 dans notre modèle de dormance versus M0.

##### 2. Étude fonctionnelle de nos lignées leucémiques par imagerie calcique

###### a. A l'aide d'un inhibiteur des canaux Orai

L'analyse de l'homéostasie calcique des cellules leucémiques M0 et J365 a montré une diminution significative de l'entrée calcique dépendant des stocks réticulaires dans le modèle de dormance, suggérant une altération de la signalisation calcique médiée par les canaux SOC dans le modèle. Cela confirme les résultats préliminaires du laboratoire. Ces résultats ont été confirmés en cytométrie en flux et imagerie calcique, par l'utilisation du Synta66, un inhibiteur spécifique des canaux Orai.

###### b. A l'aide de siARNs

Nous confirmons l'implication des acteurs calciques Orai1 et STIM1 par l'emploi de siARNs dédiés qui entraînent une diminution de l'entrée capacitive.

Ainsi, le rôle des canaux Orai1 est validé par deux méthodes différentes sur la signalisation calcique dans notre modèle de dormance leucémique. L'expression de STIM1 est par ailleurs cruciale pour la signalisation calcique des deux lignées.

**Conclusion :** Ce projet a pour objectif de définir les voies de signalisation calciques impliquées dans les mécanismes de dormance dans les leucémies myéloïdes. On observe une variabilité d'expression transcriptomique et traductionnelle des canaux Orai, puis des senseurs calciques STIM et des membres de la voie NFAT connue pour son rôle dans la dormance. L'hétéromérisation des canaux Orai pouvant conduire à des réponses fonctionnelles différentes, notre objectif est de décrypter cette différence par des techniques siARN et chimiques. Ensemble, ces données permettront de mieux comprendre la signalisation calcique dans les leucémies myéloïdes, puis à terme d'envisager de nouvelles solutions thérapeutiques pour une maladie dont le pronostic reste sombre.

**Mots clés :** calcium ; dormance tumorale ; canaux SOC ; leucémie myéloïde





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Mylène DUIVON

### 8) Association entre les marqueurs de l'inflammation mesurés au moment du diagnostic et les troubles cognitifs 2 ans après diagnostic du cancer du sein.

Mylène DUIVON<sup>1</sup>, Justine LEQUESNE<sup>1,2,3</sup>, Isabelle HARDY-LÉGER<sup>4,5</sup>, Olivier RIGAL<sup>6,7</sup>, Johan LE FEL<sup>6</sup>, Cécile CHARLES<sup>8</sup>, Barbara PISTILLI<sup>4</sup>, Christelle LEVY<sup>9</sup>, Charles COUTANT<sup>10</sup>, Florence LERBOURS<sup>11</sup>, Emmanuelle BOURBOULOUX<sup>12</sup>, Giulia BINARELLI<sup>1,2</sup>, Anne-Laure MARTIN<sup>13</sup>, Sibille EVERHARD<sup>13</sup>, Antonio DI MEGLIO<sup>8</sup>, Ines VAZ-LUIS<sup>8</sup>, Marie LANGE<sup>1,2,3</sup>, Florence JOLY<sup>1,14,2,3</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France / <sup>2</sup> Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France / <sup>3</sup> Cancer & Cognition Platform, Ligue Contre le Cancer, 14000 Caen, France / <sup>4</sup> Gustave Roussy, 94800 Villejuif, France / <sup>5</sup> Hopital Cochin, 75014 Paris, France / <sup>6</sup> Care support department, Centre Henri Becquerel, 76000 Rouen, France / <sup>7</sup> Medical oncology department, Centre Henri Becquerel, 76000 Rouen, France / <sup>8</sup> INSERM UNIT 981, Gustave Roussy, Villejuif, Île-de-France, France / <sup>9</sup> Institut Normand du Sein, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France / <sup>10</sup> Centre Georges François Leclerc, 21000 Dijon, France / <sup>11</sup> Institut Curie, 92210 Saint Cloud, France / <sup>12</sup> Institut de Cancérologie de l'Ouest, 44805/49100 Nantes/Angers, France / <sup>13</sup> UNICANCER, 75654 Paris, France / <sup>14</sup> CHU de Caen, Medical oncology department, 14000 Caen, France

**Contexte :** Le cancer du sein induit un état inflammatoire accru par les traitements adjuvants. Parmi les symptômes associés à l'inflammation sont observés les troubles cognitifs. Ceux-ci concernent environ 30% des patientes avant l'initiation des traitements et plusieurs années après la fin des traitements. Récemment, il a été montré qu'un taux élevé de la protéine C-réactive (CRP, représentative du niveau d'inflammation), évalué avant traitement puis tous les ans pendant 5 ans, était associé à une augmentation de la plainte cognitive 1an plus tard. Ainsi, les marqueurs de l'inflammation pourraient permettre de prédire la plainte cognitive liée au cancer du sein.

**Objectif :** Cette étude mesure l'association entre les marqueurs de l'inflammation mesurés avant tout traitement et les troubles cognitifs observés 2 ans après diagnostic.

**Matériels et méthodes :** L'étude CANTO-Cog, inclut des patientes nouvellement diagnostiquées pour un cancer du sein localisé de stade I-III issues de la cohorte Française CANTO (NCT01993498). Les patientes lors de l'inclusion ne présentaient pas de comorbidités psychiatriques ou neurologiques, ni de troubles cognitifs majeurs (MMSE $\leq$ 26) et n'avaient subi aucun traitement. Les concentrations en marqueurs de l'inflammation (IL-2/IL-4/IL-6/IL-8/IL-10/TNF $\alpha$ /IFN $\gamma$ /CRP) ont été mesurées avant tout traitement (baseline, y compris la chirurgie du cancer du sein) à partir d'un échantillon sanguin. La cognition, a été mesurée à l'aide de tests neuropsychologiques, à baseline et 2 ans après (2-ans), soit environ 15 mois après la fin des traitements adjuvants (radiothérapie et/ou chimiothérapie). Une patiente était considérée comme présentant un trouble cognitif global si au moins deux fonctions cognitives étaient altérées parmi les suivantes : mémoire épisodique, mémoire de travail, fonctions exécutives, vitesse de traitement, attention. Les co-variables suivantes ont été prises en compte : anxiété, dépression, fatigue, IMC, hormonothérapie et chimiothérapie.

Les scores neuropsychologiques ont été corrigés pour l'effet d'apprentissage, les concentrations en cytokines log-transformées, et la CRP dichotomisée selon un seuil à 5. L'association entre les troubles cognitifs à 2-ans et chacun des marqueurs de l'inflammation à baseline et des co-variables a été mesurée par un modèle de régression logistique, ajusté sur les troubles cognitifs à baseline, l'âge et le niveau d'éducation. Les marqueurs de l'inflammation et co-variables associés selon un risque alpha de 10% ont ensuite été inclus dans un modèle multivariable pour lequel une sélection de type backward a été réalisée. Une correction de bonferroni a été appliquée selon  $p = \alpha/8 = 0.00625$ .

**Résultats :** L'échantillon était constitué de 200 patientes (moyenne d'âge 54 $\pm$ 11 ; années d'études 13 $\pm$ 3) dont 127 (64%) traitées par chimiothérapie et 164 (82%) par hormonothérapie. À baseline et 2-ans, 27% des patientes présentaient un trouble cognitif global, la vitesse de traitement étant le domaine le plus altéré (33% des patientes). La présence d'un trouble cognitif global à 2-ans était associée à une concentration plus élevée à baseline en IL-6 (OR=2.15) et plus faible en IL-10 (OR=0.39). La présence de troubles de la mémoire épisodique à 2-ans était associée à une concentration en CRP supérieure à 5mg/mL à baseline (OR=7.01).

**Conclusion / Discussion :** Une concentration en marqueurs de l'inflammation plus élevée au moment du diagnostic est associée à des troubles cognitifs 2 ans plus tard. Ainsi, les patientes avec un niveau d'inflammation plus élevé avant même tout traitement seraient plus à risque de présenter des troubles cognitifs une fois les traitements terminés. Bien que l'évaluation des cytokines ne soit pas réalisée en routine, une concentration élevée en CRP ( $\geq$ 5mg/mL), facilement détectable en clinique, pourrait permettre une détection précoce des troubles cognitifs post-traitements.

**Mots clés :** cancer du sein, troubles cognitifs, inflammation, cytokines





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Quentin LEMERCIER

### 9) Interactions neurones-cellules de gliome dans les processus d'invasion de la substance blanche, dans un modèle préclinique de glioblastome.

Quentin LEMERCIER<sup>1,2</sup>, Laurence DESRUES<sup>1,2</sup>, David GODEFROY<sup>2,3</sup>, Alexis LEBON<sup>2,4</sup>, Lucie MARTIN<sup>1,2</sup>, Olivier LANGLOIS<sup>1,5</sup>, Florent MARGUET<sup>1,6</sup>, Pierrick GANDOLFO<sup>1,2</sup>, Hélène CASTEL<sup>1,2</sup>, Oana CHEVER<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, CBG, INSERM U1245, Rouen, France

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

<sup>3</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, NORDIC, INSERM U1239, Mont-Saint-Aignan, France

<sup>4</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, Regional Cell Imaging Platform of Normandy (PRIMACEN), Mont-Saint-Aignan, France

<sup>5</sup> Service de neurochirurgie, CHU de Rouen, Rouen, France

<sup>6</sup> Service d'anatomo-cytopathologie, CHU de Rouen, Rouen, 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 inférieure à 18 mois après traitement standard. Ce mauvais pronostic est lié notamment au caractère invasif des cellules tumorales gliales. Ces cellules peuvent se détacher de la masse tumorale et infiltrer le parenchyme cérébral et être responsables de la récurrence et des échecs thérapeutiques. Comprendre les mécanismes permettant l'invasion dans le cerveau des gliomes en général et des cellules de glioblastome en particulier s'avère donc nécessaire pour envisager de nouvelles voies thérapeutiques pour traiter ce cancer. Les faisceaux de substance blanche constituent une voie majeure de migration mais les mécanismes d'invasion des gliomes sont encore mal connus.

Dans ce but, des expériences avec des modèles murins de glioblastome ont été réalisées afin de caractériser les dommages tissulaires et fonctionnels associés à l'invasion des gliomes, dans le corps calleux et la capsule externe. Les dommages tissulaires ont été observés par immunohistochimie sur coupes de cerveau de souris porteuses de tumeurs, après injection stéréotaxique de cellules humaines U87-GFP dans le cerveau de souris *Nude* immunodéficientes (6-10 semaines). Des immunomarquages sur des coupes flottantes ont été réalisés, suivi d'acquisitions confocales/en feuillet de lumière et analyses d'images associées afin d'étudier le degré d'invasion tumorale au sein de la substance blanche. La lignée U87 présente une masse tumorale circonscrite présentant toutefois des doigts d'invagination dans le parenchyme sain. Cette invasion collective progresse sur plusieurs centaines de micromètres le long des faisceaux de substance blanche. L'invasion tumorale, à distance de la masse tumorale, est associée à une astrogliose précoce et dommages axonaux. Dans les zones d'invasion, les cellules tumorales U87 utilisent majoritairement les vaisseaux (90%) pour migrer mais contactent également les axones, et ce indépendamment de leur état de myélinisation, suggérant des interactions fonctionnelles entre neurones et cellules de gliome. De manière intéressante, des interactions avec les vaisseaux et les axones sont également retrouvées avec une lignée de cellules de glioblastome de patient (PDCL GBO2) disponible dans l'équipe. Cette lignée est invasive et présente un tropisme important pour la substance blanche. Après évaluation du tropisme pour la substance blanche sur tranches organotypiques, la lignée PDCL GBO2 a été injectée dans des souris *Nude* immunodéficientes. 3 semaines après injection, les cellules tumorales infiltrèrent la substance blanche aussi bien le corps calleux que la capsule externe. Ces cellules tumorales présentent une migration périvasculaire (30% des cellules tumorales infiltrantes contactent des vaisseaux) au sein de la substance blanche, mais elles migrent majoritairement le long d'axones myélinisés (70% des axones utilisés totaux) et non myélinisés.

Pour mettre en évidence des interactions fonctionnelles entre cellules de gliome et activité neuronale sur les processus d'invasion des cellules de gliome, des expériences de pharmacologie sur cultures organotypiques ont été réalisées. Des cellules U87-GFP ont été ensemencées sur des tranches de cerveaux de souris C57BL6 (3-5 semaines) et maintenues en vie plusieurs jours. L'infiltration a été quantifiée à la suite d'acquisitions d'images après immunomarquages des tissus fixés. L'invasion des cellules tumorales dans le parenchyme cérébral est favorisée par la présence d'un bloqueur de canaux sodiques, la tétrdotoxine, suggérant des processus d'invasion dépendants de l'activité neuronale.

En conclusion, ces données permettent de mettre en évidence la présence de dommages tissulaires associés à l'invasion dans la substance blanche et suggèrent une modulation des processus d'invasion par l'activité neuronale. Ces perspectives s'inscrivent dans une meilleure compréhension du phénomène d'infiltration tumorale, responsables de récurrences chez l'homme.

Remerciements : Inserm, Université de Rouen Normandie, Cancéropôle Nord-Ouest, Région Normandie et FEDER.

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





## Session Jeunes chercheurs Communications orales

Valentyn FOURNIER

### 10) « On nous ment ! » : induction expérimentale de l'adhésion à des théories du complot et intention de recours à la chimiothérapie.

Florent VARET<sup>1</sup>, Valentyn FOURNIER<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Anthro-*Lab*, ETHICS EA7446, Université Catholique de Lille, France

<sup>2</sup> Univ. Lille, CNRS, UMR 9193 - SCALab - Sciences Cognitives et Sciences Affectives, F-59000, Lille, France

**Contexte :** En oncologie, le suivi des recommandations médicales est un prédicteur important de la survie et de la qualité de vie des patients (Jacobs et al., 2019). Il a été observé chez des patients à bon pronostic que le recours aux médecines complémentaires et alternatives (MAC) était associé à un refus des traitements conventionnels et à une survie moindre (Johnson et al., 2018a, 2018b). Identifier les facteurs psychosociaux prédisant l'attrait pour les MAC et le rejet de la médecine conventionnelle est primordial pour en limiter l'impact.

Deux premières études corrélationnelles réalisées auprès d'une population générale (Fournier & Varet, soumis) ont montré que l'adhésion à des théories du complot (TC) génériques (non-spécifiques à la santé) était positivement corrélée à l'adhésion à des TC spécifiques à la chimiothérapie (i.e., l'industrie pharmaceutique et les autorités publiques cacheraient l'efficacité des MAC et exagèreraient l'efficacité de la chimiothérapie pour des intérêts financiers). Ces deux variables étaient négativement associées avec l'intention de recourir à la chimiothérapie et positivement avec l'intention de recourir aux MAC, dans une tâche dans laquelle les participants s'imaginaient être atteints de cancer. Le design corrélationnel de ces études n'a pas permis de conclure à un effet causal des TC sur les intentions de recours aux traitements.

**Méthode :** En s'inspirant d'un paradigme expérimental existant (Natoli & Marques, 2021), la présente étude visait à vérifier l'existence d'un lien causal en manipulant l'adhésion à des TC liées à la chimiothérapie. 242 participants ont réalisé une étude en ligne et étaient affectés aléatoirement à une condition « pro-conspiration » ou à une condition « anti-conspiration ». Dans chaque condition, les participants lisaient un article présenté comme provenant d'un journal de presse. En condition « pro-conspiration », l'article accusait l'industrie pharmaceutique de cacher l'efficacité des MAC tout en exagérant l'efficacité de la chimiothérapie pour des intérêts financiers. En condition « anti-conspiration », l'article défendait la position inverse, en affirmant l'efficacité de la chimiothérapie et défendant la transparence de l'industrie pharmaceutique. Ensuite, les participants devaient compléter une échelle d'adhésion à des TC liées à la chimiothérapie (Fournier & Varet, soumis). Ils devaient ensuite s'imaginer recevoir un diagnostic de cancer pour lequel un traitement par chimiothérapie était recommandé. Les intentions de recourir à la chimiothérapie, aux MAC en complément et en remplacement étaient évaluées. Enfin les participants devaient évaluer la crédibilité de l'article qui leur était présenté (Appelman & Sunder, 2016).

**Résultats :** Les résultats montrent un effet de la condition sur les intentions de recours à la chimiothérapie et aux MAC, médié par l'adhésion aux TC liées à la chimiothérapie. L'effet de l'article est conditionné par le niveau de crédibilité qui lui est attribué ( $ps < .05$  pour les 3 indices de médiation modérée). Ainsi, une augmentation de l'adhésion aux TC liées à la chimiothérapie, une diminution de l'intention de recours à la chimiothérapie et une augmentation de l'intention de recours aux MNC sont observées lorsque l'article pro-conspiration est jugé fortement crédible ou que l'article anti-conspiration est jugé faiblement crédible.

**Discussion :** Ces résultats confirment l'effet causal des TC liées à la chimiothérapie sur les intentions de ne pas recourir à la chimiothérapie et de recourir aux MNC, notamment en remplacement. Ces résultats ont des implications pratiques considérables. En effet, ils montrent l'implication de l'exposition à des informations « alternatives » relatives aux traitements en oncologie. Par ailleurs, ils montrent que les actions visant à réduire les TC liées à la chimiothérapie pourraient avoir des effets contre-productifs lorsque la source n'est pas jugée crédible ou digne de confiance. De futures études devront vérifier si les effets des TC étudiées jusqu'ici peuvent effectivement impacter les choix de traitements en population clinique. Le cas échéant, les futures études devront développer et évaluer des interventions visant à réduire ou contrer les effets négatifs de l'adhésion à des TC, en se basant sur des techniques existantes (e.g., pré-bunking, inoculation psychologique, debunking, éducation à la pensée critique, entraînement à la régulation émotionnelle).

**Mots clés :** théories du complot ; adhésion thérapeutique ; médecines alternatives et complémentaires





# SESSION

## JEUNES CHERCHEURS

# Concours des 3 meilleurs Posters

## 2 étapes

**Fin avril 2023 :**

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

Seuls les 10 auteurs sélectionnés 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 sessions posters.

# Prix du Public pour le meilleur poster

Tous les posters sont éligibles au concours





## Session Jeunes chercheurs

Juliette AURY LANDAS

### Poster

#### 1) L'hadronthérapie pour cibler les cellules souches de glioblastomes pour contrer la radiorésistance.



Juliette AURY-LANDAS <sup>1\*</sup>, Elodie PERES <sup>1\*</sup>, Nolwenn PASQUET <sup>1\*</sup>, Charly HELAINE <sup>1</sup>, Romane REQUIER <sup>1</sup>, Jasmine TAYLOR <sup>1</sup>, Jérôme TOUTAIN <sup>1</sup>, Myriam BERNAUDIN <sup>1</sup>, Samuel VALABLE <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ., UNICAEN, CNRS, ISTCT, GIP CYCERON, 14000 Caen, France

\* Contribution équivalente

Les glioblastomes (GBM) sont des tumeurs cérébrales résistantes aux thérapies conventionnelles notamment à la radiothérapie conventionnelle à base de Rayons X (RX). Les cellules les plus radiorésistantes dans une masse tumorale de glioblastome pourraient être les cellules souches de gliome (GSC) en raison de leur état quiescent et de la grande efficacité de leurs voies de réparation de l'ADN. De plus, le nombre de GSC augmente après la radiothérapie et est associé au risque de récurrence. Cette augmentation du nombre de GSC pourrait être liée à la dédifférenciation des cellules tumorales induite par l'irradiation par des RX [1]. De plus, l'hypoxie, une caractéristique majeure des glioblastomes, bien connue pour induire une résistance aux RX, a été identifiée comme un facteur contribuant à la dédifférenciation des cellules de glioblastomes en GSC et notamment via les facteurs de transcription HIF. L'hadronthérapie qui utilise des particules est bien connue pour être moins dépendante de l'effet de l'oxygène, mais son impact sur la dédifférenciation des cellules tumorales est moins documenté [2].

Dans ce contexte, nous avons évalué *in vitro*, l'effet des hadrons (protons et ions carbonés), en combinaison ou non avec des inhibiteurs de HIF, sur la capacité de dédifférenciation des cellules tumorales de GBM U87-MG en cellules souches cancéreuses.

D'abord, nous avons caractérisé la capacité des cellules de glioblastomes à se dédifférencier en GSC. Nos résultats confirment *in vitro* que ces cellules tumorales sont capables de former des sphères qui expriment des marqueurs souches et hypoxiques. Puis, nous avons étudié l'effet de différentes modalités d'irradiations sur cette capacité de dédifférenciation. De manière intéressante, nos résultats montrent que les protons et les ions carbonés diminuent de manière dose dépendante la formation de sphères contrairement aux rayons X. Ensuite, comme les sphères expriment des marqueurs hypoxiques, nous avons évalué l'impact du ciblage de l'hypoxie intracellulaire par des inhibiteurs pharmacologiques de la voie HIF sur cette capacité de dédifférenciation. Sans irradiation, nous n'avons pas mis en évidence d'effet de ces inhibiteurs sur la formation des sphères, même si l'expression des gènes induits par l'hypoxie sous l'influence de HIF est bien inhibée. Enfin, nous avons testé si la combinaison de l'irradiation et du ciblage de l'hypoxie pourrait améliorer les effets de l'irradiation seule. De manière surprenante, l'inhibition de HIF diminue la formation des sphères après irradiation par les rayons X, mais n'améliore pas l'efficacité des hadrons afin de réduire encore plus le nombre de sphères formées.

Pour conclure, notre étude montre que les hadrons (protons et ions carbonés) limitent la dédifférenciation des glioblastomes après irradiations. Ainsi, l'hadronthérapie semble être une piste thérapeutique prometteuse pour limiter les phénomènes de résistance et donc cibler la récurrence des glioblastomes.

[1] Zhang L, et al. Dedifferentiation process driven by radiotherapy-induced HMGB1/TLR2/YAP/HIF-1 $\alpha$  signaling enhances pancreatic cancer stemness. *Cell Death Dis.* 2019 Sep 26;10(10):724.

[2] Valable S, et al. Impact of Hypoxia on Carbon Ion Therapy in Glioblastoma Cells: Modulation by LET and Hypoxia-Dependent Genes. *Cancers (Basel).* 2020 Jul 23;12(8):2019.

Remerciements : Région Normandie pour le financement du programme RIN CHOxTRaCC

**Mots-clés : cellules souches cancéreuses, hadronthérapie, inhibiteurs de HIF, glioblastome, dédifférenciation**





## Session Jeunes chercheurs

Giulia BINARELLI

### Poster

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

Giulia BINARELLI<sup>1,2</sup>, Marie LANGE<sup>1,2,3</sup>, Mèlanie DOS SANTOS<sup>1</sup>, Sophie LEFEVRE ARBOGAST<sup>1</sup>, Mohammed SALI DAUDA<sup>1</sup>, Jean-Michel GRELLARD<sup>1</sup>, Aurélie CAPEL<sup>1</sup>, Marie FERNETTE<sup>1</sup>, Laure TRON<sup>1</sup>, Bénédicte CLARISSE<sup>1</sup>, Florence JOLY<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14076 Caen, France

<sup>2</sup> Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

<sup>3</sup> Cancer and cognition Platform, Ligue Nationale Contre le Cancer, 14000 Caen, France

<sup>4</sup> 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. Jusqu'à 75% des patients rapportant une plainte cognitive souhaiteraient 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 semblent être les interventions les plus efficaces pour améliorer les difficultés cognitives. Toutefois, ces interventions sont difficiles à mettre en place en pratique clinique. Pour pallier ces limites, les interventions informatisées sont utilisées, 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, suite à la crise de COVID 19, il est devenu de plus en plus important de développer des interventions à distance.

**Objectifs :** L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la faisabilité et l'acceptabilité d'une intervention multimodale informatisée et à domicile, comportant des séances de stimulation cognitive et d'activité physique adaptée (APA) auprès de patientes traitées par radiothérapie pour un cancer du sein ayant une plainte cognitive. Parmi les objectifs secondaires figurait l'évaluation de la satisfaction des participantes au programme.

**Méthode/conception :** Etaient incluses les patientes traitées pour un cancer du sein recevant une radiothérapie (associée ou non à la chimiothérapie) et présentant une plainte cognitive (auto-questionnaire FACT-COG). Les patientes ne devaient pas être traitées par hormonothérapie. Les participantes ont réalisé 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 critère de jugement principal était l'adhésion à l'intervention, évaluée à travers la réalisation de 70% du contenu du programme. L'acceptabilité du programme et la satisfaction des participantes ont également été évaluées. La plainte cognitive (questionnaire FACT-Cog), les performances cognitives objectives (logiciel CNS Vital Signs), ainsi que l'anxiété/dépression (HADS), les troubles du sommeil (ISI) et la fatigue (FACIT), ont été évaluées avant intervention (T0) et à la fin du programme (T1).

**Résultats :** Parmi les participantes éligibles, 32% des participantes ont accepté de participer à l'étude (principal motif de refus : absence d'intérêt pour une intervention cognitive, 39%). L'âge moyen des participantes était de 48 ans ( $\pm 7$ ), 18/20 participantes ont été traitées par chimiothérapie (dont 4/20 sont en cours de traitement). Soixante-huit pourcents des participantes avaient une plainte cognitive sévère, 60% avaient des troubles cognitifs objectifs, 69% avaient une fatigue sévère, 77% souffraient d'anxiété et 64% d'insomnie. Le critère de jugement principal était atteint par 50% des participantes, en complétant plus de 70% du programme. Les taux d'adhésion étaient plus élevés pour les séances d'APA (90%) que celles de stimulation cognitive (50%). Toutes les participantes ayant répondu au questionnaire de satisfaction étaient très satisfaites du programme. Une amélioration significative des scores au FACT-Cog a été observée pour les sous-échelles PCI (déficience cognitive perçue) ( $p=0.003$ ), et PCA (compétences cognitives perçues) (0.001). La plainte cognitive s'améliorait significativement chez 36% des participantes. Il n'a pas été observé d'amélioration significative des performances cognitives objectives. La fatigue et l'anxiété diminuaient significativement chez 38 et 54% des participantes, respectivement.

**Discussion :** Ce type de programme devrait être proposé essentiellement aux participantes traitées par chimiothérapie car elles sont plus susceptibles de présenter une plainte cognitive. Les résultats de cette étude montrent la faisabilité et l'efficacité d'une intervention multimodale informatisée sur les troubles cognitifs des participantes traitées pour un cancer du sein. Cette étude était un préalable indispensable avant d'envisager une étude de plus grande ampleur (essai contrôlé randomisé multicentrique).

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





## Session Jeunes chercheurs

Giulia BINARELLI

### Poster

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

Giulia BINARELLI<sup>1,2</sup>, Marie LANGE<sup>1,2,3</sup>, Mélanie DOS SANTOS<sup>1</sup>, Mylène DUIVON<sup>1,2</sup>, Aurélie CAPEL<sup>1</sup>, Antoine BOUÉ<sup>1,2</sup>, Jean-Michel GRELLARD<sup>1</sup>, Laure TRON<sup>1,2</sup>, Johan LE FEL<sup>4</sup>, Olivier RIGAL<sup>4,5</sup>, Bénédicte CLARISSE<sup>1</sup>, Florence JOLY<sup>1,2,3,6</sup>

<sup>1</sup> Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14076 Caen, France

<sup>2</sup> Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

<sup>3</sup> Cancer and cognition Platform, Ligue Nationale Contre le Cancer, 14000 Caen, France

<sup>4</sup> Care Support Department, Centre Henri Becquerel, Rouen, France

<sup>5</sup> Medical Oncology Department, Centre Henri Becquerel, Rouen, France.

<sup>6</sup> 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, leur observance aux traitements oncologiques et leur survie. Parmi les interventions existantes, la stimulation cognitive informatisée montre des résultats prometteurs pour la prise en charge des troubles cognitifs chez les patients jeunes. Cependant, ce type d'intervention nécessite d'en tester l'acceptabilité et la faisabilité auprès de patients âgés.

**Objectif :** L'objectif de cette étude était 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 traitées pour un cancer du sein.

**Méthode :** L'étude concernait des patientes âgées de 70 ans et plus, traitées pour un cancer du sein par chimiothérapie, thérapie adjuvante ou radiothérapie. L'absence de difficultés cognitives majeures pour participer à l'étude était évaluée par le test de screening MoCA. Lors du bilan d'inclusion (T0), la plainte cognitive des patientes était évaluée (auto-questionnaire FACT-COG). Il était prévu d'inclure 55 patientes dans cette étude bi-centrique (centre François Baclesse et centre Henri Becquerel). Il était demandé aux patientes de réaliser 3 séances de stimulation cognitive avec le logiciel HappyNeuron sur un support tactile (tablette). La première séance était consacrée à la familiarisation avec le logiciel sous la supervision d'un neuropsychologue. Les 2 autres séances étaient réalisées en autonomie par les patientes. Le critère de jugement principal était la réalisation d'au moins 3 exercices proposés en 10 minutes maximum lors d'une des 2 séances en autonomie (facilité d'utilisation). L'acceptabilité, l'adhésion et la satisfaction ont également été évaluées.

**Résultats :** Le taux d'acceptabilité était faible (38%) (principal motif de refus : absence d'intérêt pour participer à une étude, 80%). Les 2/3 patientes ayant accepté de participer étaient traitées par radiothérapie. Au moment de l'inclusion, la plupart des participantes présentaient une plainte cognitive sévère (82%) et avaient déjà utilisé un outil numérique (smartphone et/ou tablette) (54.5%). L'adhésion au programme était élevée (complétion des trois séances) pour 80% des participantes. Le critère de jugement (facilité d'utilisation) était atteint pour la majorité des participantes (96%) et 87% des participantes étaient très satisfaites de l'intervention. Parmi les participantes, 66% déclaraient qu'elles avaient besoin de plus de pratique avec le logiciel pour se sentir à l'aise et 33% qu'elles avaient besoin d'aide pour utiliser le logiciel. Les participantes préféraient une intervention supervisée sur site plutôt qu'une intervention non supervisée à domicile.

**Discussion :** Globalement, les patientes ayant accepté de participer à cette étude ont été capables d'utiliser des outils numériques (tablettes), et d'apprécier ce type d'intervention. Cependant, le taux d'acceptation de cette étude est faible, potentiellement lié au fait qu'il n'existait pas de critère d'inclusion sur la plainte cognitive. Dans le cas du patient âgé, il semble plus approprié de proposer une intervention sur site et supervisée. En outre, le moment plus opportun pour proposer ce genre d'intervention semble être au cours de la radiothérapie. Les études futures devraient évaluer l'efficacité de ce type d'intervention en comparaison à d'autres interventions, telles que des interventions cognitives non informatisées.

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





## Session Jeunes chercheurs

Tiphaine BIOJOUT

### Poster

#### 4) Rôles de la kinase MST3 dans l'acquisition des propriétés pro-métastatiques induites par l'hyperactivation de NDR2 dans les cellules de CBNPC.

Tiphaine BIOJOUT<sup>1</sup>, Dimitri LEITE FERREIRA<sup>1,2</sup>, Fatéméh DUBOIS<sup>1,3</sup>, Emmanuel BERGOT<sup>1,2</sup>, Jérôme LEVALLET<sup>1</sup>, Guénaëlle LEVALLET<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup> Normandie University, UNICAEN, CNRS, ISTCT Unit, GIP CYCERON, F-14074 Caen, France

<sup>2</sup> Department of Pulmonology and Thoracic Oncology, University Hospital of Caen, F-14000 Caen, France

<sup>3</sup> Department of Pathology, CHU de Caen, F-14033 Caen, France

<sup>4</sup> Federative Structure of Cyto-Molecular Oncogenetics (SF-MOCAE), University Hospital of Caen, F-14000 Caen, France

Près de 40 % des patients atteints de cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) développeront des métastases cérébrales au cours de leur maladie assombrissant davantage leur survie. Ce pouvoir métastatique est acquis notamment suite à l'altération de la voie de signalisation RASSF1A/Hippo par dérégulation épigénétique et/ou lors de l'hypoxie qui s'installe avec la croissance tumorale. Cette voie comprend des régulateurs (RASSF1A), des kinases (MST1/5 et NDR (NDR1/2, LATS1/2)) et deux cofacteurs de transcription (YAP/TAZ). Dans les CBNPC, l'altération de la voie RASSF1A/Hippo se traduit par l'hyperactivation de la kinase NDR2 et de YAP, ce qui favorise ainsi la transition épithélio-mésenchymateuse, l'acquisition de propriétés pro-migratoires et la formation de métastases cérébrales (De Fraipont *et al.*, 2012, Dubois *et al.*, 2016, Keller *et al.*, 2019, Dubois *et al.*, 2019).

Une boucle de régulation semble exister entre les kinases MST3 et NDR2. En effet, MST3 phosphoryle et active NDR2 contrôlant ainsi la prolifération cellulaire (Cornils *et al.*, 2011). En retour, NDR2 peut induire par un mécanisme caspase-dépendent, le clivage du domaine C-terminale de MST3 permettant son activation, sa translocation nucléaire et la régulation de l'apoptose (Lee *et al.*, 2004, Stegert *et al.*, 2005).

Dans une lignée cellulaire de CBNPC présentant une hyperméthylation du promoteur de RASSF1 (lignée H2030-BrM3), nous avons montré que l'inactivation de l'expression de NDR2 ou de MST3 (respectivement par shARN et siARN) n'affecte pas l'expression génique ou protéique de l'autre kinase. En revanche, une différence de localisation subcellulaire de MST3 est constatée selon que les cellules expriment ou non NDR2.

Nous avons de plus observé que la perte d'expression de MST3 comme de NDR2 diminue l'expression des gènes cibles de YAP (*CTGF*, *Cyr61*) et des gènes de dédifférenciation cellulaire (*Sox2* et *Sox9*), sans effet additif lors de l'inactivation simultanée des deux kinases. Néanmoins, la perte d'expression de MST3 ou NDR2 n'influence pas la vitesse de migration cellulaire de la même façon. En effet, une diminution de la vitesse de migration est observée pour les cellules n'exprimant plus NDR2 mais pas pour celles n'exprimant plus MST3, ni pour les cellules n'exprimant ni MST3 ni NDR2.

L'ensemble de ces résultats préliminaires renforcent l'hypothèse d'une boucle fonctionnelle liant MST3 et NDR2 et contrôlant leur localisation cellulaire et/ou leur activation ainsi que leur rôle dans les différents processus de la dissémination métastatique. Ces données suggèrent aussi l'existence de rôles spécifiques pour chacune de ces kinases dans ces processus, faisant d'elles des cibles thérapeutiques potentielles pour les patients atteints d'un CBNPC avec une hyperactivité de NDR2.

**Mots clés : CBNPC, métastases cérébrales, voie RASSF1A/Hippo, NDR2, MST3**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Antoine BOUÉ

### Poster

#### 5) Hormonothérapies du cancer de la prostate et cognition : revue systématique et méta-analyse.

Antoine BOUÉ<sup>1</sup>, Florence JOLY<sup>1,2,3</sup>, Justine LEQUESNE<sup>2,3</sup>, Marie LANGE<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> INSERM U1086 Anticipe, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> Plateforme cancer et cognition, Ligue nationale contre le cancer, 14000 Caen, France

<sup>3</sup> Centre Baclesse - service de recherche clinique, 14076 Caen, France

**Contexte :** L'hormonothérapie est le traitement de référence des cancers de la prostate avancés et son usage a été étendu aux cancers localisés en association avec la chirurgie ou la radiothérapie. À la première génération d'hormonothérapie (anti-androgènes, agonistes et antagonistes de la LHRH) s'ajoute désormais de nouveaux traitements ciblant la voie du récepteur aux androgènes (dont l'acétate d'abiraterone et l'enzalutamide). Ces traitements s'adressent majoritairement à des patients âgés de plus de 65 ans et plusieurs études ont suggéré un effet délétère de l'hormonothérapie sur la cognition avec des résultats contradictoires quant à l'intensité des troubles et la nature des fonctions cognitives impactées. En raison des potentielles répercussions fonctionnelles chez ces patients âgés, ce travail visait à évaluer longitudinalement l'impact des hormonothérapies du cancer de la prostate sur les mesures objectives et subjectives de la cognition.

**Méthode :** Une revue systématique et une méta-analyse d'études longitudinales ont été réalisées à partir de PubMed, Web of Science et PsychINFO. Les études éligibles incluaient des patients atteints d'un cancer de la prostate et des mesures spécifiques de la cognition objective (tests cognitifs) et subjective (questionnaires de plainte cognitive) avant l'introduction d'une hormonothérapie (hors orchidectomie) puis au cours des traitements. Les études non randomisées étaient incluables. Les données de groupes contrôles (patients sans hormonothérapie et sujets sains) étaient recueillies lorsqu'elles étaient disponibles. Les scores ont été agrégés selon une classification internationale consensuelle pour permettre une évaluation par fonctions cognitives. Des différences moyennes standardisées (g de Hedges) ont été calculées puis regroupées dans un modèle à effets aléatoires. Ces analyses ont été répétées pour les études incluant un groupe contrôle puis comparées aux résultats des patients traités par hormonothérapie. Enfin, des analyses en sous-groupes ont été menées afin d'estimer l'effet de la durée du traitement ainsi que celui du risque de biais des études sélectionnées.

**Résultats :** Vingt études ont été incluses dans la revue systématique (1440 patients) et quatorze présentaient les données requises pour leur inclusion dans la méta-analyse (893 patients). Le risque de biais moyen des études sélectionnées était modéré. La revue systématique montrait une forte proportion de patients présentant des troubles cognitifs avant le début de l'hormonothérapie (jusqu'à 45-50%). Une augmentation de la plainte cognitive était observée au cours du traitement. L'augmentation de la plainte cognitive était supérieure chez les patients traités par enzalutamide comparés à ceux qui étaient traités par acétate d'abiraterone. La méta-analyse n'a pas montré de déclin des scores mesurant les performances cognitives objectives. Les tailles d'effet étaient faibles (de  $g = -0,08$  à  $g = 0,18$ ) et l'évolution des scores des patients étaient similaires à celle des groupes contrôles (de  $p = 0,10$  à  $p = 0,91$ ), quelle que soit la fonction cognitive objective évaluée. Une forte hétérogénéité dans les résultats était observée ( $I^2 > 0,5$  pour 6 des 8 fonctions cognitives évaluées) en lien avec les variations de la durée du traitement et les mesures cognitives utilisées.

**Conclusion :** Cette revue systématique et méta-analyse ne permettent pas de conclure formellement à un effet délétère de l'hormonothérapie sur les performances cognitives objectives. Les premières études sur la nouvelle génération d'hormonothérapie montrent une plainte cognitive supérieure chez les patients traités par enzalutamide, traitement qui pourrait pénétrer la barrière hémato-encéphalique. La forte incidence des troubles cognitifs antérieurs au traitement et l'augmentation de la plainte au cours de celui-ci doivent alerter les cliniciens sur les risques fonctionnels associés au déclin de la cognition chez ces patients âgés.

**Mots clés :** Cancer de la prostate, hormonothérapies, méta-analyse, troubles cognitifs

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Elisa CAROUGE (abs)

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

Elisa CAROUGE, Audrey DENGREMENT, David TULASNE, Anne CHOTTEAU-LELIÈVRE

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

**Le cancer de la prostate** (CaP) est le cancer masculin à la plus forte incidence mondiale où la première ligne de traitement est l'hormonothérapie anti-androgène. Cependant, la quasi-totalité de ces cancers développe des résistances au traitement entraînant souvent la formation de métastases, qui est la principale cause de mortalité en dépit des progrès thérapeutiques.

Ces dernières années, plusieurs acteurs importants pour la progression des CaP ont été identifiés. Il s'agit notamment de **MET**, un récepteur membranaire, ainsi que des facteurs de transcription nucléaires de la **famille ETS**, surexprimés suite à des remaniements chromosomiques. Bien que ces acteurs agissent dans des compartiments cellulaires différents, ils jouent des rôles cruciaux et complémentaires dans la transduction du signal. Malgré de nombreuses données démontrant que MET et les facteurs de transcription ETS appartiennent à la même voie de régulation et sont impliqués dans des réponses biologiques communes, leur rôle précis et leur coopération au cours de la cancérisation restent à déterminer.

Le but du projet est donc de décrypter leur **interface fonctionnelle** dans la progression du CaP et particulièrement lors de la formation métastatique associée à l'androgéno-résistance. La connaissance des mécanismes mis en œuvre devrait permettre d'identifier de nouveaux acteurs moléculaires pouvant constituer des outils de diagnostic, pronostic ou encore des voies de ciblage utilisables en thérapeutique.

Pour cela, différents modèles cellulaires de CaP sont utilisés, exprimant les fusions ERG ou ETV1 et le récepteur MET, à partir desquels des tests phénotypiques, des analyses transcriptomiques sont réalisés de même que l'étude de la relevance *in vivo* chez la souris et chez les patients.

A ce stade du projet, les **tests phénotypiques** *in vitro* réalisés afin de mesurer la capacité de prolifération, de migration ou encore d'invasion cellulaire montrent que les fusions ETS seules, entraînent plus de migration et d'invasion par rapport aux cellules contrôles, et que ces effets sont significativement augmentés lorsque les voies de signalisation du récepteur MET sont activées par l'HGF. Ces données montrent que le récepteur MET et les fusions ETS, lorsqu'ils sont associés, conduisent à un phénotype plus agressif. Des **expériences** *in vivo* ont été réalisées grâce à un modèle de **souris humanisée exprimant l'HGF humain**, nous évaluons la collaboration de ces acteurs dans la prise tumorale et l'essaimage métastatique. Les résultats obtenus montrent d'une part que la surexpression de ERG comme celle de ETV1 augmente de façon importante (2 à 3 fois en point final) la formation des tumeurs par rapport aux cellules contrôles et que d'autre part l'administration de Capmatinib en gavage quotidien réduit cette capacité au niveau du volume tumoral des cellules contrôles, celles-ci n'étant quasi pas affectées par l'adjonction du TKI.

Pour conclure, nous confirmons que **MET et ERG/ETV1 sont des acteurs importants** dans nos modèles de CaP. La nouveauté qu'apporte le projet c'est que la présence du récepteur MET et des facteurs de transcription ERG et ETV1 de manière concomitante entraîne l'amplification des caractères pro-tumorigéniques comme la migration ou encore l'invasion cellulaire, ces effets pouvant être bloqués par l'administration de Capmatinib. Le projet s'inscrit dans l'intérêt de déterminer une **stratification précise des patients** et de contourner la **résistance aux hormonothérapies** données en première ligne. Le but ici est de comprendre l'importance clinique de la présence de MET et ERG/ETV1 dans la progression de la maladie, pour laquelle des inhibiteurs du récepteur MET pourraient être bénéfiques aux patients en rechute thérapeutique.

**Mots clés : Cancer de la prostate, ETV1, ERG, Facteurs de transcription, Récepteur MET, Thérapies ciblées**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Yasmine CHOKRY

### Poster

#### 7) Impact of hypoxia on the effect of fenofibrate-loaded nanoemulsions in glioblastoma.

Yasmine CHOKRY<sup>1,2</sup>, Anne-Claire GROO<sup>2</sup>, Charly HÉLAINE<sup>1</sup>, Aurélie MALZERT-FRÉON<sup>2</sup>, Samuel VALABLE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UniCaen, CNRS, ISTCT, GIP CYCERON, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> Normandie Univ, UniCaen, CERMN, 14000 Caen, France

Fenofibrate is an active pharmaceutical ingredient (API) of the fibrate class that could be repositioned for the treatment of glioblastoma (GBM). Indeed, it significantly inhibits U-87-MG and U-251-MG human GBM cell lines proliferation and could be able to induce apoptosis in GBM cells [1]. In addition, fenofibrate could be able to inhibit HIF-1 $\alpha$  and reduce the expression of hypoxia-inducible genes and could therefore overcome the effect of hypoxia on chemoresistance [2]. However, the use of this API requires optimal galenic development and recent work at CERMN has made it possible to develop fenofibrate-loaded nanoemulsions (NEF) [3]. At this stage, the formulation is controlled and fenofibrate remains encapsulated at high doses. The objective of the present study was to assess the efficacy of NEF to induce GBM cell death in normoxia and in hypoxia and to assess the safety over non-tumoral brain cells.

To assess the efficacy of fenofibrate-loaded nanoemulsions over GBM cells, we studied their effect on both U-87-MG and U-251-MG cell lines at various time points (24, 48 and 72 hours), and showed a time- and concentration-dependent cytotoxicity. Indeed, we observed a dose dependent effect of NEF on both cell lines in normoxia, with a greater sensitivity of U-251-MG. In hypoxia, chemoresistance was however still observed. Studies on efflux pump were performed but we failed to show a relationship between hypoxia and expression of the pumps.

At the same time, we showed that blank nanoemulsions, without active substance, and NEF at defined doses, did not induce toxicity on primary astrocytes.

As a conclusion, fenofibrate could be successfully encapsulated into nanoemulsions. The formulation seems safe for normal cells but induces toxicity on GBM cells. We are still trying to improve these new nanoemulsions relative to hypoxia-induced chemoresistance.

This work was supported by the Cancéropôle Nord-Ouest and the Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI).

#### References

[1] Binello E. et al. Characterization of fenofibrate-mediated antiproliferative pro-apoptotic effects on high-grade gliomas and anti-invasive effects on glioma stem cells. *J Neurooncol* 2014, 117, 225–234.

[2] Lin C. et al. Fenofibrate inhibits hypoxia inducible factor-1 alpha and carbonic anhydrase expression through activation of AMP-activated protein kinase/HO-1/Sirt1 pathway in glioblastoma cells. *Environ Toxicol* 2021, 36, 2551–2561

[3] Séguy L. et al. Design of Non-Haemolytic Nanoemulsions for Intravenous Administration of Hydrophobic APIs. *Pharmaceutics*. 2020, 12, 1141.

**Mots clés : Glioblastoma, fenofibrate, nanoemulsions, hypoxia**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Laura COULARDEAU

### Poster

#### 8) Evaluation de l'efficacité de la Thérapie Photodynamique au 5-ALA dans le Glioblastome et Caractérisation de ses mécanismes d'action.

Laura COULARDEAU <sup>1\*</sup>, Bastien GOUGES <sup>1,2\*</sup>, Guillaume GROLEZ <sup>1</sup>, Olivier MORALES <sup>1,3</sup>, Bertrand LEROUX <sup>1</sup>, Anne-Sophie VIGNION-DEWALLE <sup>1</sup>, Nicolas REYNS <sup>1,2\*</sup> et Nadira DELHEM <sup>1\*</sup>. \*Equally contributed authors

<sup>1</sup> Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1189 ONCO-THAI, Assisted Laser therapy and immunotherapy for Oncology, France

<sup>2</sup> Service de Neurochirurgie, Hôpital Roger Salengro, CHRU de Lille, Lille, France

<sup>3</sup> CNRS UMS 3702, Lille Institute of Biology, F-59021 Lille, France

**Introduction :** Le glioblastome est la tumeur cérébrale primitive maligne la plus fréquente, qui reste incurable, avec une médiane de survie de 15 mois. Le traitement standard, quand il est possible, consiste en une chirurgie d'exérèse, suivie d'une radio-chimiothérapie. Toutefois, malgré une prise en charge complète, les récurrences sont nombreuses. Il existe donc un rationnel à améliorer l'arsenal thérapeutique de prise en charge des patients atteints de glioblastome. La thérapie photo-dynamique (PDT) est une thérapie innovante pertinente dans le traitement des glioblastomes. Des études sont actuellement en cours afin de déterminer l'efficacité de la PDT et la potentielle amélioration de la survie des patients. La PDT consiste en l'illumination de cellules tumorales préalablement photosensibilisées par un agent pharmacologique. En présence d'oxygène, et suite à une exposition à une lumière appropriée, l'agent photosensibilisateur (PS) génère des espèces réactives de l'oxygène responsables de la mort des cellules tumorales par nécrose et/ou apoptose. S'en suit une réponse immunologique permettant d'accentuer l'effet antitumoral de la PDT. Des études in vitro ont démontré que le glioblastome est particulièrement résistant à la PDT en comparaison avec d'autres cancers. Le transporteur membranaire ABCG2 pourrait être responsable de l'élimination du photosensibilisant d'intérêt (protoporphyrine IX (PpIX)) par un mécanisme d'efflux, et donc de résistance à la PDT du glioblastome. Certaines molécules utilisées en pratique clinique pourraient inhiber ce transporteur, et ainsi améliorer l'efficacité de la PDT. L'objectif de ce travail de recherche est d'étudier l'effet de ces molécules sur l'incorporation de la PpIX et l'efficacité de la PDT sur des modèles cellulaires in vitro de glioblastome.

**Matériels et méthodes :** Différentes lignées cellulaires ont été comparées, (i) La lignée HepG2, (lignée d'hépatocarcinome qui répond efficacement au traitement à la PDT), correspondant au témoin positif, (ii) Les lignées U87, U251, T98-G et A-172 qui sont quatre lignées de glioblastomes humains et enfin (iii) la lignée SVGp12, astrocytes immortalisés de fœtus humains, servant ici de contrôle de non-toxicité du traitement sur cellules saines. Ces lignées seront toutes soumises à un traitement par PDT (avec contrôle non illuminé et sans PS) avec différentes concentrations de 5-acide-aminolévulinique (5-ALA). Leur capacité de résistance au traitement sera évaluée par un test de viabilité. Ensuite, les différentes lignées seront caractérisées par un test d'incorporation du 5-ALA en fluorimétrie. La microscopie confocale permettra de localiser le transporteur ABCG2, responsable de l'efflux de du photosensibilisateur et d'apporter une information semi-quantitative et localisatrice de la PpIX intracellulaire. Grâce à une analyse transcriptomique (par RTqPCR) et protéomique (Western Blot) de différents acteurs de la voie de métabolisation de la PpIX (cycle de l'hème), nous souhaitons mettre en évidence un potentiel lien entre le cycle de l'hème, l'incorporation du 5-ALA, l'expression d'ABCG2, et l'efficacité de la PDT, sur les différentes lignées. A la suite de la caractérisation des différentes lignées, des inhibiteurs du transporteur ABCG2 seront testés : le febuxostat et le lapatinib.

**Résultats attendus :** Les résultats préliminaires montrent une différence de résistance entre les HepG2, qui répondent parfaitement au traitement PDT, les U87 qui sont fortement résistantes et les U251, qui répondent modérément au traitement. Nous nous attendons à ce que U87 exprime plus fortement le transporteur ABCG2, ce qui conduirait à un efflux de notre PS, et expliquerait donc en partie la résistance à la PDT. Les autres lignées citées précédemment seront également étudiées. Nous espérons également que l'utilisation de molécules, présentes sur le marché et inhibant le transporteur ABCG2, mènera à une inversion de tendance avec une plus forte accumulation du photosensibilisateur et donc à une augmentation de la réponse à la PDT sur les lignées auparavant peu sensibles.

**Conclusion :** A l'heure actuelle, il est trop tôt pour se prononcer sur une corrélation transcriptomique, protéique, et fonctionnelle du transporteur ABCG2 et l'efficacité de la PDT. Néanmoins, les résultats préliminaires tendent à prouver que l'efficacité de la PDT repose effectivement sur l'accumulation du photosensibilisateur. Ces résultats confirment ainsi la nécessité de cette étude sur lignées résistantes. Les résultats obtenus pourraient par la suite être transférés en modèle in vivo par xénogreffe chez le rat, puis ex vivo sur des prélèvements de patients, avant de potentiellement être utilisés en clinique afin d'améliorer l'efficacité du traitement par PDT des glioblastomes, et ainsi augmenter la survie des patients.

**Mots clés :** PDT, PS, 5-ALA, Glioblastome, PpIX, ABCG2





## Session Jeunes chercheurs

Julie COUPEY

### Poster

#### 9) Protons or X-Ray-based radiotherapy: a preclinical study of the comparative effects on radiation-induced lymphopenia in the context of brain irradiation.

Julie COUPEY<sup>1</sup>, Thao Nguyen PHAM<sup>1,2</sup>, Jérôme TOUTAIN<sup>1</sup>, Viktoriia IVANOVA<sup>1</sup>, Erika HUE<sup>3</sup>, Charly HELAINE<sup>1</sup>, Ali ISMAIL<sup>1</sup>, Romaric SAULNIER<sup>4</sup>, Gael SIMONIN<sup>5</sup>, Marc ROUSSEAU<sup>5</sup>, Cyril MOIGNIER<sup>6</sup>, Juliette THARIAT<sup>2</sup>, Samuel VALABLE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Caen Normandie, CNRS, ISTCT, UMR6030, GIP CYCERON, F-14000 CAEN, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Physique Corpusculaire, UMR 6534 IN2P3/ENSICAEN – Normandie Université, France

<sup>3</sup> LABEO, Normandie Univ., BIOTARGEN, UR 7450, 14280 Saint-Contest, France

<sup>4</sup> UAR3408/US50, UNICAEN-CNRRS-INSERM-CEA, Cyceron, GIP CYCERON, 14074 Caen, France

<sup>5</sup> Université de Strasbourg, CNRS, IPHC UMR 7178, Strasbourg, F-67000, France

<sup>6</sup> Medical physics department, Centre François Baclesse, Caen, France

#### Purpose:

Conventional X-Ray-based radiotherapy is part of the standard treatment for patients with brain tumors. However, it leads to deleterious systemic effects such as severe lymphopenia, associated with a poor prognosis. Protontherapy has emerged as a new radiation strategy for brain tumors. The lower entry dose and lack of an exit dose, compared to X-Ray, can be exploited to spare healthy brain tissue. Herein, we aimed to assess if protontherapy could be used to reduce side-effects on systemic inflammation and spare circulating leukocytes in a rodent model.

#### Materials & methods:

Tumor-free C57BL/6 mice were irradiated to a total dose of 20Gy in 2.5Gy twice-daily sessions for four consecutive days (D1 to D4) with X-Ray or protons. Two irradiation variables were defined: irradiation volume (whole-brain or left hemisphere) and dose rate (1 or 2Gy/min). Blood was withdrawn at various time points and circulating leukocytes subpopulations were analysed by flow cytometry. Brain were collected at late time for further histochemical analyses. Lymphocyte in culture were also irradiated with X-Ray or protons to assess direct sensitivity.

#### Results:

Blood sampling confirmed severe and acute radiation-induced lymphopenia early after X-Ray, with a marked depletion of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> lymphocytes subtypes, as well as B and NK cells. Whole-brain irradiation induced a more pronounced effect. Cell counts showed no effect in CD11b<sup>+</sup> myeloid cells. Proton irradiation had a conservative effect on circulating leukocytes. *In vitro* studies demonstrated similar direct radiosensitivity of lymphocytes to the two beams. Histological analyses revealed that GFAP labeling for astrocytes is close between the two protons and X-Ray beams but different from healthy tissue. In contrast, the difference in CD68 and Iba1 myeloid labeling is visually significant between the two irradiation types and with healthy tissue.

#### Conclusion:

Protontherapy for brain tumors appears as a better strategy to spare circulating leukocytes. We are now elucidating if these conservative effects come from a decrease in irradiation, a different brain tissue reaction or both.

**Mots clés : Microenvironnement, protontherapy, inflammation, lymphopenia**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Mel DIEDRO

### Poster

#### 10) Développement et Evaluation d'une Nouvelle Stratégie de Vaccination Peptidique ciblant les Pathologies Malignes associées au Virus d'Epstein-Barr (EBV).

Mel DIEDRO

OncoThAI : Thérapies assistées par Lasers et Immunothérapies pour l'oncologie / U1189 / INSERM /

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) est un virus de la famille des gamma-Herpes Viridae humains associé à différentes pathologies malignes, telles que le carcinome du nasopharynx, les lymphomes de Burkitt, les lymphomes de Hodgkin et les lymphomes NKT. Le cycle de vie de ce virus se caractérise par une phase lytique qui va permettre la dissémination du virus et une phase de latence permettant le maintien du virus dans des réservoirs périphériques (les lymphocytes B et les cellules épithéliales). Lors de cette phase de latence, le virus réduit le nombre de ses protéines exprimées au nombre de 11 appelées protéine de latence. Ces protéines de latence participent aux propriétés oncogéniques d'EBV et permettent également au virus d'échapper au système immunitaire. En effet, la réduction du nombre de gènes transcrits et par conséquent de protéines exprimées lors de cette phase de latence confère un avantage au virus contre le système immunitaire puisque cela réduit le nombre d'antigènes viraux reconnaissables lors de cette phase.

À l'heure actuelle, la prise en charge de ces pathologies malignes se base sur l'utilisation de thérapies conventionnelles (radiothérapie + /- chimiothérapie) ou sur la mise en place d'immunothérapies ciblant les points de rétrocontrôle immunitaire. Néanmoins, l'ensemble de ces thérapies sont associées à un taux de récurrence élevé avec des résultats médiocres de ces thérapies en particulier dans les lymphomes NKT chimio et radio-résistants.

Dans ce contexte d'échec thérapeutique, de nouvelles stratégies doivent être mises en place pour pallier à l'inefficacité de ces traitements. Parmi celles-ci, nous retrouvons les vaccins peptidiques basés sur l'utilisation de peptides antigéniques. Ces vaccins sont conçus à partir d'antigènes viraux, exprimés par les cellules tumorales infectées, pour booster la réponse immunitaire dirigée contre la tumeur permettant ainsi « l'éducation » et l'activation du système immunitaire contre le pathogène, ici, EBV. Dans le cadre de ces vaccins peptidiques, de nouvelles thérapies utilisent des nanoparticules, qui sont des particules dont la taille est comprise entre une dizaine et une centaine de nanomètres qui vont permettre de conférer différents avantages aux vaccins peptidiques. En effet, les nanoparticules, en plus d'avoir la capacité de transporter les peptides antigéniques, possèdent également la propriété d'activer le système immunitaire, permettant ainsi un effet adjuvant sur l'activation de la réponse immunitaire antitumorale.

Nous proposons, à travers ce projet, de développer et d'évaluer une nouvelle stratégie vaccinale basée sur l'utilisation de peptides ciblant les protéines de latence d'EBV, combinés à des nanoparticules, afin de pouvoir rétablir et réactiver une réponse immunitaire antitumorale dans le cadre des cancers associés à EBV. Pour cela, nous avons évalué dans un premier temps, l'efficacité de peptide antigénique dérivées des protéines de latence sur l'activation du système immunitaire. Dans un deuxième temps, les peptides antigéniques sélectionnées pour leur capacité d'activation du système immunitaire ont été combinés à des nanoparticules.

Une fois les complexes nanoparticules-peptides formées, nous avons comparé leur capacité d'activation de la réponse immunitaire à celle induite par le même peptide antigénique sous forme libre et démontré un gain sur l'activation de cette réponse en utilisant la forme complexée aux nanoparticules.

En conclusion, il existe un réel rationnel et un réel besoin de développer de nouvelles immunothérapies ciblant les protéines de latence du virus d'Epstein-Barr afin de contrer l'échappement immunitaire induit par le virus et ainsi lutter contre la progression des pathologies associées à ce virus. A travers ce projet, nous souhaitons confirmer et mettre en place la preuve de concept de l'efficacité d'une nouvelle thérapie combinant des peptides antigéniques dérivés de protéines de latence d'EBV et des nanoparticules dans le cadre de la lutte contre les pathologies associées au virus d'Epstein-Barr. Les premières études menées semblent démontrer un gain de la combinaison nanoparticules-peptides sur l'activation de la réponse immunitaire. Néanmoins, nous devons approfondir cette étude afin de mieux caractériser l'activation du système immunitaire induite par les complexes nanoparticules-peptides et ainsi vérifier leur innocuité en étudiant principalement l'absence d'induction de l'activation des lymphocytes T régulateur.

**Mots clés : Cancer, Epstein-Barr Virus, Pathologies, Peptides, Nanoparticules, Vaccin.**





## Session Jeunes chercheurs

Clara ELIA

### Poster

#### 11) Impact du syndrome d'apnée du sommeil sur les performances cognitives chez des femmes traitées par hormonothérapie pour un cancer du sein.

Clara ELIA<sup>1</sup>, Stephane REHEL<sup>1</sup>, Mylène DUIVON<sup>1</sup>, Florence JOLY<sup>2,3,4,5</sup>, Christelle LEVY<sup>6</sup>, Fausto VIADER<sup>1,7</sup>, Francis EUSTACHE<sup>1</sup>, Béatrice DESGRANGES<sup>1</sup>, Joy PERRIER<sup>1</sup>, Bénédicte GIFFARD<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Normandie Université, UNICAEN, PSL Université, EPHE, INSERM, U1077, CHU de Caen, Neuropsychologie et Imagerie de la Mémoire Humaine, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14076 Caen, France

<sup>3</sup> Normandie Université, UNICAEN, INSERM, U1086 ANTICIPE, 14076 Caen, France.

<sup>4</sup> Medical Oncology Department, CHU de Caen, 14000 Caen, France

<sup>5</sup> Cancer and Cognition Platform, Ligue National Centre le Cancer, 14076 Caen, France

<sup>6</sup> Medical Oncology Department, Centre François Baclesse, 14076 Caen, France

<sup>7</sup> Neurology Department CHU de Caen, 14000 Caen, France.

**Contexte :** Les patientes ayant un cancer du sein se plaignent fréquemment de difficultés de sommeil. Le syndrome d'apnée du sommeil (SAS) est caractérisé par des arrêts respiratoires et une fragmentation du sommeil (1) entraînant un sommeil de mauvaise qualité, une somnolence et une fatigue diurne excessive (2). La présence du SAS est associée à des troubles des fonctions exécutives dans la population générale (3,4). Malgré des troubles de fonctions exécutives fréquents dans le cancer du sein, notamment suite au traitement par hormonothérapie (HT – 5), le lien avec la présence d'un SAS reste peu étudié dans le cancer.

**Objectif :** Explorer le rôle prédictif du SAS sur les performances exécutives et la fatigue de patientes traitées ou non par HT pour un cancer du sein.

**Matériels et méthodes :** Dix-neuf patientes traitées pour un cancer du sein par HT (H+), 18 patientes ne recevant pas d'HT (H-), et 21 sujets sains appariés en âge (51-69 ans) et niveau d'étude (>fin d'études primaires) ont été évaluées. Le sommeil a été enregistré par polysomnographie, permettant de quantifier la présence d'un SAS (indice apnée-hypopnée : IAH). La plainte de sommeil, cognitive, et la fatigue ont été évaluées par des questionnaires (ISI, PSQI, FACT-Cog, IMF), et les fonctions exécutives par des tests cognitifs (Stroop, TMT, Zoo, n-back). Des ANOVA et des modèles de régressions linéaires (IAH, variables démographiques, variables cliniques) ont été réalisés.

**Résultats :** Les IAH ne diffèrent pas significativement entre les trois groupes ( $p=0.8$ ). L'IAH, mais pas le traitement par HT, prédit les performances exécutives ( $p<0.05$ ) et la fatigue physique mesurée par le MFI ( $p=0.031$ ). Cet effet prédictif s'améliore en contrôlant l'effet de l'âge et du niveau d'études ( $p<0.05$ ). De plus, les résultats montrent un effet prédictif du cancer sur l'inhibition ( $p=0.04$ ) et l'interférence ( $p=0.003$ ).

**Conclusion :** Malgré l'absence de différence significative de l'IAH entre les groupes, les résultats suggèrent un lien entre le SAS et les fonctions exécutives des patientes, traitées ou non par HT. Ces résultats suggèrent qu'une prise en charge du SAS dans le cancer pourrait permettre de limiter la présence des troubles exécutifs. Des études avec un plus grand nombre de sujets sont nécessaires pour confirmer ce résultat et cette hypothèse.

#### Références :

- Chang WP. et al., *Sleep Med.* 2014 Sep;15(9):1016-20.
- Punjabi NM. *Proc Am Thorac Soc.* 2008; 15:136-143.
- Salorio CF. et al. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 2002; 24(1): 93-100.
- Patel A, Chong DJ. *Clin Geriatr Med.* 2021 Aug;37(3):457 – 467.
- Bender CM. et al. *Cancer.* 2015; 121(15): 2627-2636

**Mots clés :** cancer du sein, syndrome d'apnées du sommeil, hormonothérapie, fonctions cognitives.

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Sandy FELLAH

### Poster

#### 12) L'istradefylline (KW6002) protège de la néphrotoxicité et la neurotoxicité induite par le cisplatine tout en préservant son efficacité anti-tumorale.

Sandy FELLAH<sup>1</sup>, Edmone DEWAELES<sup>1</sup>, Kévin CARVALHO<sup>2,3</sup>, Nihad BOUKROUT<sup>1</sup>, Cynthia VAN DER HAUWAERT<sup>1,4</sup>, Nathalie MARTIN<sup>1</sup>, Jhenkruthi VIJAYASHANKARA<sup>2,3</sup>, Viviane GNEMMI<sup>1,5</sup>, Nicolas POTTIER<sup>1,6</sup>, Michael PERRAIS<sup>1</sup>, David BLUM<sup>2,3</sup>, Christelle CAUFFIEZ<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S1172 LiNCog - Lille Neuroscience & Cognition, F-59000 Lille, France

<sup>3</sup> Alzheimer and Tauopathies, LabEx DISTALZ, France

<sup>4</sup> Département de la Recherche en Santé, CHU Lille, F-59000, Lille, France

<sup>5</sup> CHU Lille, Service d'Anatomopathologie, F-59000 Lille, France

<sup>6</sup> CHU Lille, Service de Toxicologie et Génopathies, F-59000 Lille, France

Le cisplatine est un agent anti-néoplasique très largement utilisé dans le traitement des tumeurs solides. Cependant, son efficacité clinique reste limitée par l'apparition d'effets indésirables fréquents, en particulier de type néphrotoxiques et neurotoxiques, chez environ un tiers des patients traités par cette molécule. La toxicité du cisplatine peut conduire à diminuer les doses administrées, voire à modifier le traitement, générant de ce fait un risque péjoratif d'évolution de la pathologie tumorale. Par conséquent, il est primordial de développer de nouvelles stratégies permettant de limiter significativement la néphrotoxicité et la neurotoxicité du cisplatine afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cancer.

Dans ce contexte, nous avons observé que l'expression rénale du récepteur à l'adénosine A<sub>2A</sub>, un récepteur jouant un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie cellulaire et tissulaire, est induite par l'administration de cisplatine dans un modèle murin. De plus, l'utilisation d'un antagoniste de ce récepteur, approuvé par la FDA dans la maladie de Parkinson, l'istradefylline (KW6002), permet de limiter à la fois la néphrotoxicité et la neuropathie périphérique, induites par le cisplatine. De plus, dans un modèle de greffe syngénique, l'administration de KW6002 n'altère pas les propriétés anti-tumorales du cisplatine et semble même le potentialiser sur certains paramètres. Le séquençage RNA-seq réalisé sur les échantillons rénaux et tumoraux a permis d'identifier les voies modulées par le cisplatine seul et en présence de KW6002. Certaines de ces voies sont évaluées in vitro dans une culture primaire immortalisée de cellules rénales tubulaires proximales et dans des lignées cancéreuses. Au total, les données obtenues sont en faveur de l'utilisation de l'istradefylline, dans le cadre d'un repositionnement de molécule, afin de limiter les effets secondaires induits par le cisplatine.

**Mots clés : cisplatine, néphrotoxicité, neurotoxicité, adénosine, récepteur A2A**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Valentyn FOURNIER

### Poster

#### 13) Interventions digitales en soins de support en oncologie : quelles sont-elles et sont-elles efficaces ? Une umbrella review.

Valentyn FOURNIER<sup>1</sup>, Christelle DUPREZ<sup>1</sup>, Delphine GRYNBERG<sup>1,2</sup>, Pascal ANTOINE<sup>1</sup>, Kristopher LAMORE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, UMR 9193 - SCALab - Sciences Cognitives et Sciences Affectives, F 59000 Lille, France

<sup>2</sup> Institut universitaire de France, Paris, France

**Contexte :** Durant les deux dernières décennies, les technologies digitales ont connu un essor considérable et ont pris une place importante dans notre société. En parallèle, la prise en charge des patients a connu un changement de paradigme, passant d'un modèle d'institutionnalisation à un modèle plus ambulatoire. Les technologies développées pour soutenir la santé et le bien-être se développent dans ce contexte et leur efficacité et leur impact sur la prise en charge des patients doivent être constamment évalués. Ces technologies comprennent divers dispositifs relevant de la eHealth, de la mHealth, de la télémédecine, du télémonitoring ou encore des thérapies digitales (i.e., interventions thérapeutiques dirigées par un programme et visant à prévenir, gérer ou traiter des symptômes). Dans ce contexte où les interventions de santé digitales se développent et sont reconnues pour être peu coûteuses et pratiques, les études sur leur efficacité sont nombreuses et disparates. De ce fait, il apparaît nécessaire de mener une synthèse de la littérature afin d'identifier les interventions digitales de soins de support en oncologie existantes, leur méthodologie et leur efficacité.

**Méthodes :** Une umbrella review (i.e., revue systématique des revues systématiques) a été menée afin d'identifier les travaux menés visant à évaluer l'impact sur des variables psychologiques, fonctionnelles ou comportementales d'une intervention digitale de soins de support destinée à des patients atteints de cancer, enfants ou adultes, ou à leurs proches. Ce travail de recherche documentaire a été réalisé par deux chercheurs sur les bases de données Embase, PsycINFO, PubMed, CINAHL et Cochrane Library. La littérature grise (Google Scholar) et les références des études incluses ont été examinées afin de s'assurer de l'exhaustivité de la recherche.

**Résultats :** Au total, 20 références rapportant 260 études uniques ont été identifiées. La majorité des interventions digitales existantes sont destinées aux patients adultes et très peu à l'entourage ou à des patients mineurs. Les cibles des interventions sont des variables comportementales (e.g., activité physique), émotionnelles (e.g. gestion émotionnelle), fonctionnelles (e.g. fatigue, douleur) ou encore la qualité de vie. L'efficacité observée des interventions est mitigée selon les issues considérées. Généralement, les interventions montrent des résultats positifs sur l'activité physique. En revanche, concernant les issues émotionnelles, il est observé une tendance générale à ne pas avoir de résultats significatifs sur l'anxiété et la dépression, mais à avoir un effet positif sur la détresse émotionnelle. Sur le plan fonctionnel, les interventions décrivent des résultats positifs sur la fatigue et le sommeil mais non-significatifs sur la douleur. Enfin, sur la qualité de vie, les résultats sont disparates, certaines études semblant avoir des effets positifs alors que d'autres ne rapportant pas d'effet significatif.

**Discussion :** Cette étude permet l'identification des limites de la littérature, montrant une diversité dans le design des interventions existantes, destinées à une proportion généralement restreinte de patients. Ainsi, ces résultats nous permettent de formuler des recommandations méthodologiques pour le développement des interventions digitales futures prenant en compte le patient et son entourage.

**Mots clés :** interventions digitales ; oncologie ; patients ; proches ; umbrella review

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Melvin GALIN

### Poster

#### 14) Etude des effets de la stimulation vestibulaire galvanique sur le rythme activité-repos, le sommeil et la flexibilité cognitive : une étude exploratoire chez des sujets sains en vue d'une application dans le cancer du sein.

Melvin GALIN<sup>1</sup>, Emma MILOT<sup>2</sup>, Nicolas BESSOT<sup>2</sup>, Stéphane REHEL<sup>1</sup>, Laura DE GIROLAMO<sup>1</sup>, Bénédicte GIFFARD<sup>1</sup>, Gaëlle QUARCK<sup>2</sup>, Joy PERRIER<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, GIP Cyceron, UMR-S 1075 | MOBILITÉS : VIEILLISSEMENT, PATHOLOGIE, SANTÉ – Comète, 14000 Caen, France

**Problématique :** Dans le cancer du sein, des plaintes cognitives impliquant les fonctions exécutives sont fréquentes<sup>1</sup>. Le sommeil jouant un rôle majeur dans les divers processus cognitifs et des plaintes d'insomnie étant également fréquentes, ces plaintes pourraient constituer l'un des facteurs explicatifs des troubles cognitifs<sup>1,2</sup>. Ces plaintes de sommeil sont associées à des perturbations circadiennes, et notamment du rythme activité-repos<sup>2</sup>. Des études récentes suggèrent l'implication du système vestibulaire dans la synchronisation circadienne et des effets bénéfiques de la stimulation vestibulaire sur la qualité de sommeil ont été rapportés<sup>3</sup>. L'objectif est d'évaluer l'impact de la stimulation vestibulaire galvanique (SVG) sur le rythme activité-repos, le sommeil et la flexibilité cognitive qui en dépend chez des sujets sains. Cela en vue d'une application future dans le contexte du cancer du sein.

**Méthodologie :** Vingt-et-un sujets (21-66 ans) ont été répartis dans deux groupes : 7 participants recevant une stimulation sham et 14 participants recevant une stimulation effective (*stim*). Leur flexibilité cognitive a été évaluée grâce au *Trail-Making-Test* (TMT). Leur rythme activité-repos et leur sommeil ont été évalués par actimétrie sur 6 nuits suivant une SVG. La SVG consistait en une séance de 20 minutes le matin (stimulation électrique percutanée mastoïdienne, 1 mA). Des coefficients de variation (paramètres de sommeil) et des ANCOVA ont été utilisés (âge et sexe en covariables). Des RCI (*Reliable Change Index*) ont été calculés pour s'affranchir de l'effet test-retest sur le TMT.

**Résultats :** Le groupe *stim* montre une meilleure stabilité des paramètres d'efficacité du sommeil ( $p=.044$ ) et du temps total de sommeil ( $p=.05$ ). La durée moyenne des éveils nocturnes ( $p=.06$ ) et le pourcentage d'éveils ( $p=.09$ ) tendent à se stabiliser. Seuls les hommes *stim* présentaient une amélioration du score « TMT (B-A)/A » ( $p = .053$ ). Un effet de l'âge était retrouvé sur l'ensemble des analyses.

**Conclusion / Discussion :** La SVG semble avoir permis de stabiliser divers paramètres de sommeil et de rythme des participants, avec un impact favorable sur une tâche de flexibilité cognitive.

Nous avons mis en lumière des effets de la SVG dans une population sans aucune plainte. Ces résultats sont encourageants pour la future étude ICANSLEEP auprès de patientes avec un cancer du sein et d'âge contrôlé, les futures patientes présentant alors des plaintes (à la fois de sommeil et cognitives) et ayant un âge limité entre 45 et 65 ans.

1. Perrier, J., Duivon, M., Rauchs, G., & Giffard, B. (2021). 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*, 18(2), 90-103. <https://doi.org/10.1016/j.msom.2020.12.002>

2. Ancoli-Israel S., (2014). *Supportive Care in Cancer*, 22(9), 2535-2545.

3. Pasquier, F., Bessot, N., Martin, T., Gauthier, A., Bulla, J., Denise, P., & Quarck, G. (2020). Effect of vestibular stimulation using a rotatory chair in human rest/activity rhythm. *Chronobiology International*, 37(8), 1244-1251. <https://doi.org/10.1080/07420528.2020.1797762>

**Mots clés :** cancer du sein, rythme activité-repos, sommeil, flexibilité cognitive, stimulation vestibulaire, poster





## Session Jeunes chercheurs

Côme GHADI

### Poster

#### 15) Drug design of UBE2N non covalent inhibitors.

Côme GHADI<sup>1</sup>, Charline KIEFFER<sup>1</sup>, Louis-Bastien WEISWALD<sup>2</sup>, Matthieu MERYET-FIGUIERE<sup>2</sup>, Anne Sophie VOISIN-CHIRET<sup>1</sup>, Léonie IBAZIZENE<sup>2</sup>, Florian SCHWALEN<sup>1</sup>, Jana SOPKOVA-DE OLIVEIRA SANTOS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CERMN (UR 4258), Université de Caen Normandie, UNICAEN, F-14032 Caen, France

<sup>2</sup> Université de Caen Normandie, INSERM U1086 ANTICIPE (Interdisciplinary Research Unit for Cancers Prevention and Treatment), BioTICLA laboratory (Precision medicine for ovarian cancers), Caen, France

Each year, 150,000 women die from ovarian cancer worldwide. The laboratory showed that the inhibition of UBE2N (Ubc13), an important mediator of the homologous recombination pathway (HR) of DNA repair, sensitizes ovarian cancer cells to chemotherapy. Preliminary results also show that an inhibitor of UBE2N (UBE2Ni) sensitizes ovarian cancer cells to inhibitors of PARP (PARPi), a protein involved in DNA repair. The clinical use of PARPi has shown quite promising results in ovarian cancer patients, but is limited to the fraction of patients with defects in HR pathway, i.e. only one third of ovarian cancers. UBE2N inhibition, by altering HR, might increase significantly the proportion of patients who could benefit from PARPi.

UBE2N is an E2 ubiquitin ligase that is involved in homologous recombination pathway (HR) of DNA repair and NF- $\kappa$ B signalling pathway. It is an enzyme that participates in nuclear Lys63-linked ubiquitin chain formation [3] and it requires interaction with the molecular partner Mms2 in the nucleus for its role in DNA repair or Ubiquitin-conjugating Enzyme Variant 1a (Uev1A) in cytoplasm for its role in NF- $\kappa$ B signalling pathway. The UBE2N/Mms2 complex catalyzes the formation of ubiquitin chains via the formation of a thioester bond between the ubiquitin molecule and the cysteine residue 87 of the active site of UBE2N [4].

The UBE2N active site in Cys 87 proximity is modulated by a flexible loop (amino acids 114-124). The loop moving generates an open or close conformation and thus modulates the cavity volume allowing to accommodate the ligand [4]. Currently, three inhibitors (UC-764864/65, NSC697923 and BAY 11-7082) which binds covalently on UBE2N active site cysteine were described in the literature [5]. Moreover, in vitro screenings allowed also to identify some non-covalent inhibitors of UBE2N [6].

The aim of our work is to develop new synthetic non-covalent inhibitors of UBE2N for clinical application to increase significantly the proportion of ovarian cancer patients who could benefit from PARPi. To tackle this problem we have applied in silico strategy. The analysis of the available three-dimensional structures of UBE2N allowed as to determine two interesting pockets for competitive inhibition design, the first one located in the proximity of the Cys87, targeted by covalent inhibitors, and the second one on the binding surface with the Mms2/Uev1a. We performed in silico screening of the CERMN's chemolibrary (contains 19 000 molecules) using docking approach on the two sites to select potential new non-covalent inhibitors. The screenings were performed using three PDB structures of UBE2N (PDB code : 4ONM, 6UMP, 3HCU), structures representing a conformational variety of flexible loop of the cysteine site. Then, a molecular dynamics simulations were applied to check stability of interaction between selected candidates and UBE2N. The molecular dynamics simulations allowed us select some interesting candidates according to interaction energy and complex stability. This emerging and innovative project is the seed of an ambitious program to synthesize innovative UBE2N inhibitors to improve the therapeutic care of ovarian cancer patients currently not benefiting from PARPi.

1. Reid, B. M., Permuth, J. B., & Sellers, T. A. (2017). *Cancer biology & medicine*, 14(1), 9.

2. Wu, X., Zhang, W., Font-Burgada, J., Palmer, T., Hamil, A. S., Biswas, S. K., ... & Karin, M. (2014). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(38), 13870-13875.

3. Hodge, C. D., Spyropoulos, L., & Glover, J. M. (2016). *Oncotarget*, 7(39), 64471.

4. Rouf, M. K., Hodge, C. D., Markin, C. J., Xu, X., Glover, J. M., Xiao, W., & Spyropoulos, L. (2014). *Journal of the American Chemical Society*, 136(50), 17446-17458.

5. Hodge, C. D., Edwards, R. A., Markin, C. J., McDonald, D., Pulvino, M., Huen, M. S., ... & Glover, J. M. (2015). *ACS chemical biology*, 10(7), 1718-1728.

6. Ardecky, R., Madiraju, C., Matsuzawa, S. I., Zou, J., Ganji, S., Pass, I., ... & Reed, J. C. (2014). *Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program* [Internet].

**Mots clés : Docking, dynamique moléculaire, UBE2N, cancer ovarien**





## Session Jeunes chercheurs

Mélanie GIRARDI

### Poster

#### 16) Évaluation de l'impact sur l'épissage de l'ARN de variations nucléotidiques identifiées au niveau des exons 9 et 10 de BRCA1, gène majeur impliqué dans la prédisposition aux cancers sein-ovaire.

Mélanie GIRARDI<sup>1</sup>, Aurélie DROUET<sup>1</sup>, Manon QUILAN<sup>1</sup>, Laëtitia MEULEMANS<sup>1</sup>, Hélène TUBEUF<sup>1</sup>, Sophie KRIEGER<sup>2,3</sup>, Virginie MONCOUTIER<sup>4</sup>, Nadia BOUTRY-KRYZA<sup>5</sup>, Odile CABARET<sup>6</sup>, Sandrine CAPUTO<sup>7,8</sup>, Pascale GAILDRAT<sup>1</sup>, Alexandra MARTINS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Rouen Normandie, Inserm U1245, Cancer and Brain Genomics, Rouen, France

<sup>2</sup> Univ Caen Normandie, Inserm U1245, Cancer and Brain Genomics, Caen, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Biologie et Génétique du Cancer - Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Centre François Baclesse, Caen, France

<sup>4</sup> Service de Génétique Oncologique, Institut Curie Hôpital, Paris, France

<sup>5</sup> Service de Génétique, plate-forme mixte des cancers fréquents, Hospices Civils de Lyon, Bron 69229, France

<sup>6</sup> Biopathology Department, Institut Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France

<sup>7</sup> Department of Genetics, Institut Curie, Paris, France

<sup>8</sup> Paris Sciences Lettres Research University, Paris, France

*BRCA1* est un gène suppresseur de tumeurs impliqué dans le syndrome sein-ovaire, l'une des prédispositions héréditaires au cancer les plus fréquentes. Cette prédisposition est transmise de façon autosomique dominante et caractérisée par un risque augmenté de développer des tumeurs du sein, de l'ovaire, de la prostate et du pancréas. L'identification d'une variation pathogène de *BRCA1* sur l'ADN génomique des patients permet de poser le diagnostic moléculaire du syndrome et par la suite d'optimiser leur prise en charge médicale ainsi que celle de leurs familles. Plus récemment, l'identification de variations pathogènes de *BRCA1* est devenue également essentielle dans le cadre de cancers sporadiques car les patients présentant des tumeurs du spectre sein-ovaire-prostate-pancréas porteuses de telles variations peuvent maintenant être éligibles à des traitements ciblés par des inhibiteurs de PARP.

Toutefois, l'interprétation clinique des variations de *BRCA1* n'est pas triviale. Le spectre mutationnel de ce gène est très large et une grande fraction des variations identifiées à ce jour demeurent de signification incertaine (VSI). De plus, la pathogénicité de certaines variations est parfois remise en question. C'est en particulier le cas de la variation composite *BRCA1* c.[594-2A>C;641A>G] qui est responsable d'un impact drastique sur l'épissage (saut total de l'exon 10,  $\Delta 10$ ) présumé « perte-de-fonction » car à l'origine d'un décalage du cadre de lecture. Longtemps considérée pathogène, cette variation a été reclassée comme neutre en 2016 suite à des travaux qui ont démontré, sur la base de plusieurs arguments (données de co-ségrégation et des résultats d'études cas/témoin, entre autres), que celle-ci n'est pas associée à une augmentation du risque de développer un cancer du sein ou de l'ovaire. Afin de concilier ces informations a priori contradictoires, une hypothèse a été proposée : l'expression physiologique des transcrits *BRCA1* alternatifs dépourvus des exons 9 et 10 ( $\Delta 9-10$ ), en phase, pourrait préserver l'activité suppresseur de tumeurs de *BRCA1* c.[594-2A>C;641A>G]. Si l'hypothèse de ce mécanisme de sauvetage se vérifiait, cela pourrait avoir des implications importantes pour la (re)-classification de la majorité des variations identifiées au niveau des exons 9 et 10 de *BRCA1*, la plupart classées comme des VSI depuis 2016.

Ici, nous avons initié l'évaluation de l'impact sur l'épissage de certaines de ces variations en déterminant les taux relatifs des différents transcrits d'intérêt (*BRCA1* pleine-longueur,  $\Delta 9-10$ ,  $\Delta 9$  et  $\Delta 10$ ) sur des échantillons biologiques de patients. Dans un premier temps, nous avons analysé par RT-PCR fluorescente les effets de 15 variations à partir de l'ARN de lignées lymphoblastoïdes (LLBs). Maintenant, des échantillons d'ARN dérivés de sang frais (PAXgene) sont en cours d'analyse, avec la même méthode, pour 12 variations (dont 5 déjà examinées sur des LLBs). Par la suite, nous effectuerons (i) des analyses d'expression allélique-spécifique (méthode SNaPshot, applicable aux variations exoniques uniquement), ainsi que (ii) des analyses par RT-ddPCR et par RNA-seq ciblé, ce qui permettra de mieux caractériser l'effet des variations sur les transcrits *BRCA1*.

Les résultats déjà obtenus par RT-PCR fluorescente sur de l'ARN de LLBs ont révélé que 8/15 variations sont associées à des défauts d'épissage et 7/15 à un épissage normal. Ces données sont en accord avec des résultats obtenus dans des essais basés sur l'utilisation de minigènes effectués précédemment dans notre laboratoire (données non publiées). Cette étude participe ainsi à la validation de ce test fonctionnel qui pourra être utilisé avec plus de confiance pour le dépistage de mutations d'épissage au niveau des exons 9 et 10 de *BRCA1*. De plus, l'ensemble de nos résultats contribue d'ores et déjà à l'interprétation clinique de certaines des variations étudiées, notamment de celles qui sont introniques et sans effet sur l'épissage qui peuvent maintenant être considérées comme neutres/probablement neutres. Pour les variations restantes des travaux additionnels visant à faire évoluer leur classification soit de VSI à neutre, soit à pathogène, sont en cours de programmation par notre laboratoire.

**Mots clés : BRCA1, prédisposition héréditaire aux cancers sein-ovaire, VSI, épissage de l'ARN**





## Session Jeunes chercheurs

Marine GOUJON

### Poster

#### 17) Etude du rôle de MUC1 sur les propriétés des cellules cancéreuses pulmonaires et dans les phénomènes de chimiorésistance au cisplatine.

Marine GOUJON<sup>1</sup>, Emma BOURDON<sup>1</sup>, Jean-Baptiste GIBIER<sup>1,2</sup>, Michaël PERRAIS<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> CHU Lille, Service d'Anatomo-Pathologie.

Malgré les avancés dans le diagnostic et la prise en charge des cancers, le cancer du poumon reste la première cause de mortalité par cancer dans le monde, tuant chaque année 1,8 millions de malades. Son agressivité est telle, que son taux de survie à 5 ans ne dépasse pas les 20%. Représenté à 85% par le sous type non à petites cellules, le cancer du poumon est le plus souvent diagnostiqué à des stades localement avancés. La chirurgie étant impossible, la prise en charge repose principalement sur des traitements systémiques, telle que la chimiothérapie à base de sels de platine (cisplatine), en association avec d'autres traitements : les immunothérapies qui ciblent les « immunes checkpoints » ou les thérapies ciblées. En dépit de ces traitements, de nombreux patients sont en échec thérapeutique, notamment à cause de résistance primaire ou secondaire aux drogues employées.

MUC1 est une large O-glycoprotéine transmembranaire sur-exprimée dans 2/3 des cancers, dont le cancer du poumon, et est connue comme jouant (i) un rôle dans la progression tumorale, (ii) comme étant associée à des signatures de chimiorésistance et (iii) induisant un micro-environnement tumoral immunosuppresseur.

L'objectif de notre projet est donc de mieux comprendre le rôle de MUC1 sur les propriétés des cellules cancéreuses pulmonaires, la chimiorésistance au cisplatine mais aussi dans l'immunosuppression.

Afin de répondre à notre projet, plusieurs lignées d'adénocarcinomes sont utilisées : deux lignées d'adénocarcinomes invalidées pour l'expression MUC1 par Crispr/Cas9 (H1975, H1299) ainsi qu'une lignée d'adénocarcinome sur-exprimant de manière stable MUC1 (PC9). Des test MTS, des tests de prolifération, des western blot et des qPCR sont utilisés. Des expériences d'immunohistochimie ont été effectuées sur une cohorte de 49 patients.

Nos résultats montrent que l'expression de MUC1 (i) est associée à une augmentation de la survie et de la prolifération cellulaire, (ii) entraîne une chimiorésistance au cisplatine, (iii) augmente l'expression des pompes d'efflux de la famille ABC, (iv) augmente l'expression des marqueurs de cellules souches comme SOX2 et Nanog et enfin (v) peut induire un micro-environnement immunosuppresseur en augmentant l'expression de PD-L1, IL4, IL13 et IL10. De plus, sur notre cohorte de patients, il a été mis en évidence que la sur-expression de MUC1 est corrélée à un score PD-L1 élevé.

En conclusion, nos résultats montrent que MUC1 est un acteur de la progression tumorale, en favorisant la survie et la prolifération cellulaire, mais aussi en pouvant induire un micro-environnement immunosuppresseur, et de la chimiorésistance au cisplatine, favorisant l'efflux du cisplatine, dans les cancers bronchiques non à petites cellules.

**Mots clés : MUC1, cancer du poumon, NSCLC, chimiothérapie, chimiorésistance, cisplatine**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Célia GUERIN (abs)

### 18) Découverte de nouvelles mutations activatrices du récepteur MET sensibles aux thérapies ciblées dans le cancer de rein héréditaire.

Célia GUERIN<sup>1</sup>, Marie FERNANDES<sup>1</sup>, Audrey VINCHENT<sup>1</sup>, Isabelle DAMOUR<sup>1</sup>, Clotilde DESCARPENTRIES<sup>2</sup>, Alexis B CORTOT<sup>1,3</sup>, Etienne ROULEAU<sup>4</sup>, David TULASNE<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Univ. Lille, Department of Molecular Oncology, CHU Lille, F-59000, Lille, France

<sup>3</sup> Univ. Lille, Thoracic Oncology Department, CHU Lille, F-59000, France

<sup>4</sup> Department of Medical Biology and Pathology, Gustave Roussy Cancer Centre, Villejuif, France

Dans le cancer du rein et le cancer du poumon, le récepteur MET, un récepteur à activité tyrosine kinase, présentent des mutations activatrices à l'origine de la progression tumorale. Des inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) dirigés contre MET ont été approuvés très récemment pour une utilisation en clinique offrant un véritable espoir aux patients porteurs de ces mutations. Cependant, l'éventail des mutations touchant le récepteur MET est large et ce panel s'élargit par la découverte de nouvelles mutations au diagnostic ou lors de résistance au traitement, notamment grâce à la démocratisation du séquençage haut-débit. L'enjeu actuel n'est plus la détection de ces mutations mais leur interprétation fonctionnelle, pouvant démontrer leur caractère activateur et leur ciblage par des TKI. De façon intéressante, le carcinome rénal papillaire de type I (HPRC), un cancer héréditaire rare, présente dans plus de 80 % des cas des mutations activatrices de MET. En effet, les premières mutations activatrices de MET ont été répertoriées dans ces cancers héréditaires avant d'être retrouvées en tant que mutations somatiques dans d'autres cancers, soit au diagnostic, soit lors de la résistance aux thérapies ciblées. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'exploitation des données de séquençage de patients souffrant d'un HPRC puissent être instrumentalisées pour créer un répertoire de mutations activatrices de MET.

Grâce à une collaboration avec l'Institut Gustave Roussy, qui centralise les données de séquençage des patients atteints d'HPRC, nous avons identifié dans cette cohorte de 158 patients, 4 mutations non décrites jusqu'à présent touchant le domaine kinase de MET (H1086L, I1102T, C1125G et L1130S). Ces mutations ont été reconstituées dans des vecteurs d'expression et leur capacité à transformer des fibroblastes ont été testées en présence ou non d'HGF, le ligand de MET. Les 4 mutations ont présenté une faible activité transformante en absence d'HGF. En revanche, elles ont présenté une activité transformante plus importante que le récepteur MET WT, suite à une stimulation à l'HGF. Afin d'approfondir la dépendance à l'HGF, chaque mutation a été exprimée stablement dans une lignée cellulaire épithéliale n'exprimant pas MET et l'activation du récepteur et des voies de signalisation en aval ont été étudiées. Pour les quatre mutations, la stimulation par l'HGF augmente la phosphorylation du récepteur et active fortement les voies de signalisation. La mobilité cellulaire est également fortement augmentée en réponse à l'HGF. De plus, ces quatre mutations ont montré une sensibilité aux TKI, ouvrant la possibilité d'un traitement de ces patients. Ainsi, contrairement à d'autres mutations activatrices du domaine kinase, ces quatre mutations présentent la particularité d'être toujours dépendantes d'une stimulation par le ligand, suggérant une implication importante de l'expression de l'HGF dans la croissance tumorale.

Nous terminons notre étude fonctionnelle avec une analyse du programme transcriptionnel régulé par les quatre mutants. Les échantillons sont en cours de séquençage par 3'RNA seq sur la plateforme de biologie moléculaire de l'université de Lille et les résultats sont attendus dans les prochaines semaines. Cette analyse nous permettra de connaître les gènes régulés avec ou sans stimulation par l'HGF et ainsi de confirmer la dépendance au ligand. Cela permettra aussi d'identifier un potentiel programme transcriptionnel commun entre les mutants. En parallèle, des marquages en immunohistochimie de MET et de l'HGF sur les coupes des tumeurs de patients présentant les mutations activatrices de MET sont en cours à l'Institut Gustave Roussy pour démontrer l'importance de l'HGF dans le microenvironnement pour favoriser la croissance tumorale.

Nos résultats ont donc permis d'identifier quatre nouvelles mutations activatrices de MET, sensibles aux TKI ayant la particularité d'être toujours dépendante de l'HGF. Ces données participeront à l'amélioration des traitements ciblés pour les patients présentant ces mutations, soit au diagnostic, soit lors de la récurrence.

**Mots clés : Cancer du rein héréditaire; MET; Récepteur tyrosine kinase; Thérapie ciblées; Tyrosine kinase receptor; Résistance; Dépendance à l'HGF**





## Session Jeunes chercheurs

Sterenn GUILLEMOT

### Poster

#### 19) Intérêt des inhibiteurs d'HDAC pour sensibiliser les cancers de l'ovaire aux inhibiteurs de PARP.

Sterenn GUILLEMOT<sup>1</sup>, Cécilia THOMINE<sup>1,2</sup>, Lucie THOREL<sup>1</sup>, Romane FLORENT<sup>2,3</sup>, Louis-Bastien WEISWALD<sup>1,2,3</sup>, Guillaume DESMARTIN<sup>3</sup>, Lucie LECOUFLET<sup>2,3</sup>, Edwige ABEILARD<sup>1,2</sup>, Florence GIFFARD<sup>1,2,4</sup>, Nicolas ELIE<sup>4</sup>, Poppy EVENDEN<sup>1,2</sup>, Emilie BROTON<sup>5</sup>, Mélanie BRIAND<sup>1,2,6,7</sup>, Enora DOLIVET<sup>1,2,8</sup>, Laurent POULAIN<sup>1,2,3,6,7</sup>, Marie VILLEDIEU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Caen Normandie, INSERM, ANTICIPE U1086, Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la Prévention et le Traitement des Cancers, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>3</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Plateforme ORGAPRED, 14000 Caen, France

<sup>4</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Plateforme Virtual'His, 14000 Caen, France

<sup>5</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Plateforme ImpedanCELL, 14000 Caen, France

<sup>6</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Centre de Ressources Biologiques «OvaRessources», 14000 Caen, France

<sup>7</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, Centre de Ressources Biologiques «OvaRessources», 14000 Caen, France

<sup>8</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, Département de chirurgie, 14000 Caen, France

La prise en charge thérapeutique des cancers de l'ovaire, pathologie au sombre pronostic, a connu depuis peu une avancée majeure avec l'introduction des inhibiteurs de PARP (PARPi), tels que l'olaparib, dans les protocoles de traitement. L'inhibition de PARP par ces molécules conduit à l'accumulation de cassures double brin de l'ADN, normalement réparées par la voie de la recombinaison homologue (RH). Lorsque cette RH est déficiente (statut HRD), les cellules sont incapables de réparer correctement les lésions induites par les PARPi et meurent par un mécanisme de létalité synthétique. Les PARPi sont donc indiqués pour les tumeurs présentant un phénotype HRD. Toutefois, dans plus de la moitié des cas, les tumeurs des patientes présentent une voie de la RH fonctionnelle et ne répondent donc pas à cette thérapie ciblée. L'identification de stratégies de sensibilisation aux PARPi constitue donc un enjeu crucial pour ces patientes.

Les inhibiteurs d'HDAC (HDACi), modulateurs de l'expression génique, ont été décrits comme capables d'invalidier la voie de la RH en perturbant indirectement l'expression de certains de ses acteurs. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'intérêt du belinostat, un inhibiteur pan-HDAC actuellement en clinique, pour sensibiliser les cellules cancéreuses ovariennes à l'olaparib.

Nos résultats montrent que le belinostat sensibilise les cellules cancéreuses ovariennes SKOV3 à l'olaparib. En effet, l'association de ces deux molécules induit l'apoptose dans cette lignée, contrairement à chacune des molécules utilisées seules. L'intérêt de cette combinaison pharmacologique a ensuite été évalué dans un modèle tri-dimensionnel de tumeurs ovariennes, établi à partir d'une tumeur de patiente et représentatif de celle-ci. L'exposition concomitante des tumeurs aux deux inhibiteurs entraîne une diminution de leur viabilité, associée à une induction de l'apoptose. L'étude des événements associés à l'effet cytotoxique de cette combinaison belinostat/olaparib a mis en évidence une augmentation du niveau de dommages à l'ADN.

L'ensemble de ces résultats suggère donc l'intérêt de l'utilisation des inhibiteurs d'HDAC pour sensibiliser les cancers de l'ovaire aux inhibiteurs de PARP.

**Mots clés : cancers de l'ovaire, inhibiteur d'HDAC, inhibiteur de PARP**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Elsa HADJ BACHIR

### Poster

#### 20) Rôle de deux modulatrices de la triméthylation de la Lysine 9 de l'Histone 3, PRDM1 et KDM4B, dans l'agressivité des cellules cancéreuses coliques.

Elsa HADJ BACHIR<sup>1</sup>, Eddy PASQUIER<sup>2</sup>, Wendy ARONDAL<sup>1</sup>, Charles POIRAUD<sup>1,3</sup>, Hugo CLAUX<sup>1</sup>, Sonia PAGET<sup>1</sup>, Belinda DUCHENE<sup>1</sup>, The Orgares CONSORTIUM<sup>1,3</sup>, Stéphanie TRUANT<sup>1,3</sup>, Bernadette NEVE<sup>1</sup>, Isabelle VAN SEUNINGEN<sup>1</sup>, Audrey VINCENT<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> CRCM - Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille Biologie Structurale et Chimie-Biologie Intégrée (iSCB as in integrative Structural and Chemical Biology)

<sup>3</sup> Department of Digestive Surgery and Transplantation, CHU Lille, F-59000 Lille, France

Les **cancers du côlon-rectum** (CCR) sont le 3<sup>e</sup> type de cancers les plus fréquents dans le monde avec un taux de mortalité en Europe de 45 % tous sexes confondus. En France, le CCR est un enjeu de santé publique majeur avec près de 43 000 nouveaux cas annuels. Malgré un taux de survie à 5 ans en hausse, le **taux de récurrence des CCR reste significatif** (jusqu'à 42%) plaçant ses cancers à la 2<sup>e</sup> place en termes de mortalité par cancer. Le défi des traitements des CCR est donc de prévenir les récurrences et les métastases en éradiquant les cellules tumorales qui en sont à l'origine afin de proposer une prise en charge thérapeutique plus efficace.

Ces dernières années, de multiples études ont permis de montrer que les **modifications épigénétiques** étaient impliquées dans la capacité des cellules cancéreuses à résister aux thérapies conventionnelles et à produire des métastases, l'expression de partitions de gènes associés à l'agressivité tumorale étant sous la dépendance de **complexes spécifiques d'enzymes régulatrices de la chromatine** (épienzymes). Pourtant, l'efficacité des inhibiteurs épigénétiques en tant que thérapies dans les tumeurs solides reste limitée.

Précédemment, une méta-analyse des données transcriptomiques (TCGA\_COADREAD) issues de 379 échantillons de patients atteints de CCR nous a permis d'établir une liste d'épienzymes dont l'expression est significativement corrélée à l'expression combinée de trois marqueurs des cellules souches cancéreuses coliques : CD133, CD44, et CD166 (LinkedOmics, score de corrélation Z calculé par la méthode de Stouffer). Parmi ces épienzymes, le facteur répresseur PRDM1 et la lysine déméthylase KDM4B qui modulent le retrait ou l'apposition de la triméthylation de la lysine 9 de l'Histone 3 (H3K9me3), ont été identifiées.

Mon objectif est d'évaluer l'implication de **ces deux épienzymes** dans l'agressivité (caractère souche et/ou invasif, résistance au traitement) des cellules cancéreuses coliques. Pour cela, nous avons tout d'abord mis en place de **nouveaux modèles de lignées cellulaires cancéreuses et d'organoïdes tumoraux coliques** qui permettent d'apprécier le caractère dynamique de l'expression des épienzymes au cours de **l'acquisition de la chimiorésistance au FOLFOX** (chimiothérapie standard dans le CCR).

Nous avons comparé par RT-qPCR le taux de transcription des gènes codant PRDM1 et KDM4B au sein de la lignée cellulaire cancéreuse colique HT-29 soumise à huit cycles de FOLFOX. Au cours du traitement, nous avons observé une surexpression cyclique de PRDM1 dans les cellules traitées par rapport aux contrôles. À l'inverse, nous avons observé un unique pic de surexpression de KDM4B autour du 5<sup>ème</sup> cycle de chimiothérapie.

Nous avons ensuite choisi la méthode de CUT&RUN-seq afin d'étudier le profil de fixation chromatinière de ces deux épienzymes au niveau des régions régulatrices **de gènes cibles**. Nous avons ainsi observé un enrichissement de la lysine déméthylase KDM4B autour du site d'initiation de la transcription du gène MYC concomitant avec la présence de la marque H3K4me3. De manière intéressante, cette fixation de KDM4B est synchronisée avec une reprise du cycle cellulaire dans les cellules traitées après trois cycles de chimiothérapie, premier signe d'une acquisition de résistance.

Afin de déterminer le **rôle** de PRDM1 et KDM4B dans le caractère souche des cellules cancéreuses coliques in vitro, nous avons réalisé un **knockdown** par ARN interférence ou oligonucléotides antisens des deux épienzymes, suivi de tests **fonctionnels** soit en condition de culture non-adhérente (tumorosphères) soit en dômes de Matrigel (tumoroides). Nos résultats montrent que l'inhibition transitoire de l'expression de KDM4B induit une diminution de la capacité des cellules cancéreuses coliques à former des tumorosphères.

Les perspectives immédiates de ce travail sont de montrer le rôle direct de KDM4B et PRDM1 d'une part dans la chimiorésistance par l'utilisation de nos modèles originaux de résistance acquise au FOLFOX et d'autre part dans la tumorigénicité in vivo des cellules cancéreuses coliques par l'utilisation de modèles murins de xénogreffes.

L'identification d'épienzymes associées à l'agressivité des cellules cancéreuses coliques permettra de proposer de nouvelles cibles d'inhibition d'interactions protéiques. Cette approche thérapeutique pourrait s'avérer plus pertinente que les thérapies épigénétiques déjà existantes peu spécifiques et donc peu utilisées jusqu'à présent dans les tumeurs solides.

**Mots clés : Enzymes épigénétiques, Résistance au traitement, Caractère souche, Cancer colorectal**

15<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques du Cancéropôle Nord-Ouest - 10 au 12 mai 2023 - Deauville

63





## Session Jeunes chercheurs

Mariette HANOT

### Poster

#### 21) Utilisation du modèle poisson zèbre dans la lutte contre les gliomes pédiatriques porteurs de la mutation H3.3K27M.

Mariette HANOT, Pamela VÖLKEL, 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

Le gliome pontique intrinsèque diffus (DIPG) est un gliome de haut-grade se déclarant majoritairement chez l'enfant âgé de 6 à 9 ans. Ce cancer localisé au niveau du tronc cérébral est extrêmement agressif et présente une médiane de survie de 10 mois post-diagnostic. Ce faible taux de survie s'explique principalement par l'absence de traitement efficace à ce jour. Dans la majorité des DIPG, une mutation somatique faux-sens dans le gène H3F3A a été identifiée. Cette mutation est responsable de la substitution de la lysine K27 par une méthionine dans le variant d'histone H3.3 (mutation H3.3<sup>K27M</sup>). La présence du variant d'histone muté inhibe l'activité enzymatique du Polycomb-repressive complex 2 (PRC2) à travers l'interaction avec la sous-unité catalytique du complexe, EZH2, ce qui entraîne une diminution drastique de la méthylation H3K27me3. L'analyse transcriptomique de lignées cellulaires porteuses de la mutation H3.3<sup>K27M</sup> a en outre révélé la dérégulation de l'expression de nombreux gènes parmi lesquels sont surreprésentés les gènes impliqués dans la neurogenèse mais aussi dans la locomotion.

Le poisson zèbre (*Danio rerio*) est un modèle vertébré largement utilisé pour étudier le développement et apparaît comme un modèle émergent pour la recherche en cancérologie. De nombreux cancers du poisson zèbre sont similaires sur les plans histologiques et moléculaires aux tumeurs humaines. Les DIPG affectent le tronc cérébral dont l'origine embryologique présente des similitudes avec le cerveau des poissons. Ainsi, le modèle poisson zèbre est particulièrement pertinent pour l'étude des gliomes pédiatriques.

Afin de mieux comprendre le rôle de la mutation H3.3<sup>K27M</sup> et de la perte de la marque H3K27me3 dans la genèse de ces cancers, notre approche repose sur l'utilisation d'un modèle de poissons zèbres portant une mutation dans le gène *ezh2*. Cette lignée *ezh2* mutante présente une baisse globale de la triméthylation H3K27me3 et mime ainsi la perte de fonction du PRC2 observée dans les DIPG. Le marquage par hybridation in situ de l'expression de nombreux gènes impliqués dans la neurogenèse a mis en évidence que la mutation du gène *ezh2* affecte les cellules neurales au cours du développement embryonnaire en fonction de leur localisation et/ou de leur degré de différenciation. L'inhibition de l'activité du PRC2 semble favoriser le maintien d'un pool important de cellules souches neurales et inhiber la prolifération cellulaire spécifiquement dans les cellules du cervelet. En outre, la réalisation de tests de locomotion et de thigmotactisme a permis l'observation d'un phénotype d'hyperactivité chez les larves de poisson zèbre *ezh2* mutantes. Ce phénotype pourra être exploité afin de cribler des molécules capables de le restaurer, permettant ainsi l'identification de nouvelles molécules thérapeutiques.

Nos résultats attestent de la pertinence de l'utilisation du poisson zèbre comme modèle d'étude des DIPG. Les larves *ezh2* mutantes permettent d'adresser la question de l'origine cellulaire des tumeurs et fournissent un outil pour tester rapidement et facilement un grand nombre de molécules d'intérêt thérapeutique *in vivo*.

**Mots clés : Epigénétique, Poisson zèbre, Répression Polycomb, PRC2, Gliome**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Anaïs HOROCHOWSKA

### Poster

#### 22) Établissement d'un modèle persistant aux chimiothérapies dans le cancer du sein triple négatif.

Anaïs HOROCHOWSKA<sup>1</sup>, Marie DENOULET<sup>1</sup>, Mathilde BRULÉ<sup>1</sup>, Flavie WOESTELAND<sup>1</sup>, François ANQUEZ<sup>2</sup>, Chann LAGADEC<sup>1</sup>, Xuefen LE BOURHIS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Lille, CNRS, CHU Lille, Centre Oscar Lambret, UMR9020 – UMR1277 – Canther – Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

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

La résistance tumorale a longtemps été considérée d'un point de vue déterministique, comme résultant d'une sélection darwinienne de clones cellulaires rares préexistants ou générés de novo possédant des mutations génétiques favorisant la résistance et la croissance tumorale. Néanmoins, malgré d'impressionnants résultats liant la détection de mutations spécifiques à la résistance aux thérapies ciblées, ceci ne couvre pas tous les cas de résistance. De plus en plus d'études mettent en avant l'existence d'une sous-population cellulaire cancéreuse mineure capable de tolérer les chimiothérapies indépendamment de mutations génétiques, par la mise en place d'un phénotype quiescent réversible : les « Drug Tolerant Persister » (DTP). Ces cellules reprennent leur prolifération après des périodes de dormance parfois prolongées après la levée du traitement et reconstituent la tumeur, pouvant être de nouveau chimio-sensible au même traitement.

De manière alternative, il a été proposé que la résistance des cancers pouvait être associée à une sous-population rare nommée "cellules souches cancéreuses", possédant les capacités d'auto-renouvellement et de régénérer une tumeur dans sa forme originale, via leur faible sensibilité aux traitements.

La caractérisation des DTP, et plus particulièrement l'identification des mécanismes sous-jacents le phénotype refuge permettant aux cellules cancéreuses de persister en tolérant la chimiothérapie, ouvrirait la voie vers l'émergence de nouvelles thérapies ciblant les DTP afin de prévenir les rechutes tumorales. En vue d'étudier les DTP, notre premier objectif a été de mettre au point un modèle de cellules persistantes en réponse à une chimiothérapie dans le cancer du sein triple négatif. Nous avons prédéfini que ce modèle devait être caractérisé par une élimination drastique de la population cellulaire, et par une période de quiescence d'au moins 1 semaine suite à l'arrêt de la thérapie, suivi d'une reprise de la prolifération.

Nous avons ainsi testé 3 lignées cellulaires du cancer du sein triple négatif : MDA-MB-231, SUM159-PT et BT549. Ces 3 lignées ont été challengées sur 6 jours avec différentes concentrations de gemcitabine, une drogue cytotoxique proposée aux patientes atteintes de cancers du sein avancés. L'évolution de la population cellulaire a été suivie pendant 21 jours. Les premiers résultats nous ont permis d'identifier différents profils de réponse face à la chimiothérapie selon les lignées. Seul le profil de réponse de la lignée MDA-MB-231 correspond aux critères du modèle DTP que nous voulons mettre en place. Ainsi, nous avons obtenu un traitement efficace avec un pourcentage de cellules persistantes relativement faible, entre 1 à 5 % le jour de l'arrêt du traitement, parmi lesquels seulement une faible proportion des persistantes sont capables de reprendre la prolifération. De manière intéressante, nous avons également observé que cette reprise de prolifération arrivait entre 7 et 10 jours après la levée de la chimiothérapie.

En parallèle, pour affiner le suivi du profil souche de ces cellules, nous avons mis au point un système de microscopie permettant un suivi individuel de plusieurs milliers de cellules sur plusieurs jours (jusqu'à 12 jours). Ce système nous permet également d'analyser l'état souche de nos cellules via l'expression d'un gène rapporteur fluorescent sous la dépendance du promoteur ADLH1A1 (pALDH1A1:mNeptune-TK). Ces conditions expérimentales nous permettent en particulier d'identifier la dynamique du phénotype souche au sein de la population des DTP au moment de l'entrée en dormance, lors du maintien de la dormance ou au moment de reprise de la prolifération.

Pour conclure, nous avons identifié les conditions expérimentales nécessaires à l'étude des DTP in vitro, et développé un système de microscopie à fluorescence afin d'observer la dynamique phénotypique de ces cellules.

**Mots clés : Cancer du sein triple négatif, Drug tolerant persister, modèle in vitro, chimiothérapie, cellules souches cancéreuses**





## Session Jeunes chercheurs

Angéline KASPROWICZ

### Poster

#### 23) Régulation de l'expression du ganglioside OAcGD2 vers de nouvelles cibles thérapeutiques.

Angéline KASPROWICZ<sup>1,2</sup>, Sumeyye CAVDARLI<sup>3</sup>, Christine BAL<sup>4</sup>, Tiziano INGEGNERE<sup>4</sup>, Nicolas JONCKHEERE<sup>4</sup>, Jean-Marc LEDOUSSAL<sup>2</sup>, Samuel MEIGNAN<sup>4</sup>, Suman MITRA<sup>4</sup>, Philippe DELANNOY<sup>1</sup>, Sophie GROUX-DEGROOTE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Lille, CNRS, UMR 8576-UGSF- Unité de Glycosylation Structurale et Fonctionnelle, 59655 Villeneuve d'Ascq, France

<sup>2</sup> OGD2Pharma, Institut de Recherche en Santé de l'Université de Nantes, 3 Chemin du Pressoir, 44100 Nantes, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Protéomique, Réponse Inflammatoire et Spectrométrie de Masse (PRISM), Inserm, U1192, 59000 Lille, France

<sup>4</sup> Inserm UMR1277, CNRS UMR9020-CANTHER, Université de Lille, CHU Lille, 59000 Lille, France

Du fait de son expression élevée dans de nombreux cancers (cancers du sein, du poumon, sarcomes, neuroblastomes, glioblastomes) et de son expression limitée dans les tissus adultes sains, le ganglioside GD2 est une cible thérapeutique d'intérêt. Le premier anticorps monoclonal ciblant le GD2 : le Dinutuximab, a été approuvé en 2015 aux Etats-Unis et en Europe pour le traitement de neuroblastomes pédiatriques à haut risque puis retiré de l'Europe en 2017. D'autres anticorps anti-GD2 tels que le Dinutuximab-béta et le Naxitamab ont été respectivement approuvés en Europe en 2017 et aux USA en 2020. Malgré un bénéfice évident, le traitement par anticorps anti-GD2 cause une toxicité neurologique, avec en particulier des douleurs neuropathiques (de type allodynies) liées à l'expression du GD2 sur les nerfs périphériques sains. Les gangliosides peuvent être modifiés par O-acétylation sur un acide sialique, ce qui module leur antigénicité et leurs fonctions. La forme O-acétylée du GD2 (OAcGD2) est exclusivement exprimée dans les tissus cancéreux et peu ou pas exprimée dans les tissus sains. Contrairement au GD2, l'OAcGD2 est absent des nerfs périphériques ce qui fait de l'OAcGD2 une cible thérapeutique moins toxique que le GD2 et une alternative pour l'immunothérapie anticancéreuse. Il a été montré que l'anticorps anti-OAcGD2, développé par la société OGD2 Pharma, était aussi efficace que le Dinutuximab dans des modèles de neuroblastomes et glioblastomes in vitro et in vivo. L'anticorps anti-OAcGD2 n'induit pas d'allodynie chez le rat, ce qui est extrêmement prometteur pour le développement de nouvelles thérapies dans les cancers pour lesquels le Dinutuximab est efficace mais induit une toxicité sévère.

Les mécanismes d'acétylation des gangliosides ainsi que les gènes impliqués dans cette modification restent mal connus et ce n'est que récemment que le gène CASD1 a été identifié comme codant une sialyl-O-acétyltransferase. Néanmoins, l'étude du rôle de CASD1 dans les cellules de cancer du sein s'est heurtée à quelques difficultés : en particulier, il n'a pas été possible de maintenir des clones surexprimant CASD1. Afin d'explorer ces mécanismes d'acétylation et d'identifier les gènes impliqués dans la biosynthèse de l'OAcGD2, nous avons réalisé en collaboration avec le laboratoire du Dr F. Bard (AStar, Singapour) un criblage haut débit dans la lignée cancéreuse mammaire MDA-MB-231 GD3S+ (stablement transfectée par la GD3 synthétase et exprimant fortement l'OAcGD2). Soixante-douze gènes ont été identifiés comme impliqués dans la biosynthèse de l'OAcGD2 dont 33 activateurs et 39 suppresseurs. La plupart des gènes identifiés sont impliqués dans le métabolisme cellulaire et les voies de signalisation. Nous avons choisi, pour poursuivre cette étude, un gène dont l'inhibition par siRNA augmente fortement l'O-Acétylation du GD2 : CERK (codant la céramide kinase). Afin de valider l'implication de ce gène dans la biosynthèse de l'OAcGD2, nous avons réalisé des tests utilisant (i) individuellement les siARN (testés en mélange dans le criblage haut débit) dans des cellules cancéreuses mammaires MDA-MB231 GD3S+ et (ii) l'inhibiteur pharmacologique de CERK, le NVP231 sur l'effet de l'O-acétylation du GD2 en quantifiant son expression par techniques immunologiques (cytométrie en flux et microscopie confocale).

L'inhibition de CERK augmente l'expression de l'OAcGD2 dans les cellules de cancer du sein et de neuroblastome. Nous avons ensuite étudié l'impact de l'inhibition de CERK/augmentation de l'OAcGD2 sur les propriétés biologiques des cellules de cancer du sein, par des tests de migration en Transwell et des tests de blessure. Nous avons montré que l'inhibition de CERK diminue la migration des cellules cancéreuses mammaires.

Des expériences in vitro de cytotoxicité directe de l'anticorps anti-OAcGD2 et indirecte (ADCC), en combinaison avec des drogues ciblant CERK et affectant l'expression de l'OAcGD2 sont en cours sur différentes lignées cancéreuses surexprimant l'OAcGD2.

L'intérêt d'identifier CERK comme nouveau gène régulant l'expression de l'OAcGD2 est de mettre en place des stratégies de combinaisons thérapeutiques alliant immunothérapie anti-OAcGD2 et drogues anti-métabolites (ciblant CERK) pour les cancers d'origine neuro-ectodermiques surexprimant l'OAcGD2.

**Mots clés : Gangliosides, OAcGD2, CERK, anticorps, immunothérapie**





## Session Jeunes chercheurs

Kekely KLOUYOVO

### Poster

#### 24) Implication du gène *BST2* dans les phénotypes associés à la surexpression de *H19* dans le cancer du sein.

Kekely KLOUYOVO<sup>1</sup>, Joséphine LOUVIEAUX<sup>1</sup>, Evodie PEPPERSTRAETE<sup>2</sup>, Amandine LASSET<sup>3</sup>, Xuefen LE BOURHIS<sup>1</sup>, Eric ADRIAENSSENS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CANTHER UMR9020 CNRS

<sup>2</sup> Centre de Biologie - Pathologie (CHU de Lille)

<sup>3</sup> Université de Lille

Aujourd'hui, il est largement attesté que les longs ARN non codants (lncRNA) jouent un rôle prépondérant dans la régulation de nombreux mécanismes cellulaires, et ce plus particulièrement dans le développement des cancers. C'est le cas du long ARN non codant *H19* que notre équipe a identifié comme surexprimé dans 70% des cancers du sein et impliqué dans la tumorigenèse mammaire.

Le lncRNA *H19* est le premier lncRNA découvert. Chez l'Homme, il est exprimé à partir du locus *H19/IGF2* présent au niveau du chromosome 11 en position p15.5, qui s'étend sur 140 kpb. Il s'agit d'un locus soumis à l'empreinte génomique : le gène *H19* est exclusivement exprimé à partir de l'allèle maternel tandis que le gène *IGF2* est exprimé exclusivement à partir de l'allèle paternel.

Notre équipe a montré que la surexpression d'*H19* dans les cellules cancéreuses mammaires favorise les processus associés à la tumorigenèse, notamment la prolifération, la migration et l'invasion cellulaire. Cependant les effecteurs moléculaires d'*H19* restent peu décrits dans la littérature. Récemment, grâce à des analyses transcriptomiques effectuées sur des lignées surexprimant stablement *H19*, nous avons remarqué que la surexpression d'*H19* s'accompagne de la surexpression d'un gène nommé *BST2*.

*BST2*, également appelé « Tetherin », HM1.24 ou « cluster of differentiation 317 » (CD317), est une protéine transmembranaire de type II, active sous forme dimérisée et principalement décrite pour posséder une activité antivirale. Cependant l'implication de *BST2* dans la promotion de plusieurs cancers est de plus en plus recensée, notamment dans les cancers gastriques où la protéine participe à la formation de métastase.

Ainsi en utilisant des modèles de surexpression (transfection stable) et d'inhibition (utilisation de siRNA) d'*H19*, nous avons montré que dans quatre lignées cancéreuses mammaires (MDA-MB-231, MCF-7, T47D et SUM159-PT), la surexpression ou l'inhibition d'*H19* s'accompagne respectivement d'une augmentation ou d'une diminution de l'expression de *BST2*, à la fois au niveau transcriptionnel (analyse par RT-qPCR) mais aussi au niveau protéique (Western Blot et cytométrie en flux). De façon intéressante, nous avons également observé qu'en surexprimant ou inhibant *BST2*, nous induisons respectivement une augmentation ou une diminution de l'expression d'*H19* dans nos lignées cellulaires. De plus, nous avons montré que la surexpression de *BST2* semblait induire des phénotypes similaires à la surexpression d'*H19*, soit une augmentation de la prolifération, de la migration et de l'invasion cellulaire.

Ce résultat semble indiquer l'existence de mécanisme de co-régulation entre *BST2* et *H19*. Notre hypothèse est que cette co-régulation est le résultat de l'action d'un ou de plusieurs microARN. Ainsi nous avons identifié le miR-760 comme capable de se fixer in silico à la fois sur la séquence d'*H19* mais également sur celle de *BST2*. Grâce à des expériences se basant sur l'utilisation de vecteur rapporteur couplé à l'utilisation de mimic-miRNA et d'anti-miRNA, nous envisageons de tester la fixation du miR-760 sur les séquences d'*H19* et *BST2* in vitro, permettant de valider notre hypothèse de co-régulation par un microARN. Ainsi ce projet vise à établir *BST2* comme l'un des effecteurs d'*H19* dans le développement et la progression du cancer du sein.

**Mots clés : lncRNA, H19, BST2, cancer, microARN, co-régulation, effecteur**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Gwenn LE GALL

### Poster

#### 25) Étude « HERception » : Impact du Trastuzumab sur la fatigue, la qualité de vie et le retour au travail des patientes atteintes d'un cancer du sein localisé.

Gwenn LE GALL, Centre François Baclesse Caen

**But :** Nous avons voulu analyser l'impact du Trastuzumab en adjuvant sur la fatigue, la qualité de vie et le retour au travail des patientes traitées pour un cancer du sein localisé.

**Méthodes :** Dans une étude prospective, nous avons inclus des patientes atteintes d'un cancer du sein localisé traitées par chimiothérapie adjuvante avec (groupe1) ou sans Trastuzumab IV (groupe2), entre 2011 et 2014. Les patientes ont rempli des questionnaires sur la qualité de vie (FACT-G, FACT-B), la fatigue (FACIT-F, ICQ), l'anxiété-dépression (HADS) et la vie professionnelle (auto-questionnaire dédié) à l'inclusion puis à 3, 6, 9 et 15 mois.

**Résultats :** Nous avons inclus 35 patientes dans chaque groupe. Aucune différence significative n'a été trouvée entre les 2 groupes concernant les scores de retour au travail, de fatigue et de qualité de vie à chaque phase de l'étude. 39 patientes (72,2%) ont déclaré avoir repris le travail à T15, sans différence significative entre les deux groupes ( $p=0,53$ ). Des scores significativement plus élevés pour le sentiment d'impuissance ont été observés dans le groupe 1, à 9 et 15 mois (6,138 et 5,731 ;  $p= 0,047$  et  $0,048$  respectivement). Les patients du groupe1 ont rapporté un score d'anxiété-dépression plus haut que ceux du groupe2 à 3 mois ( $p=0,027$ ) puis aucune différence significative n'a été observée.

**Conclusion :** Le trastuzumab ne semble pas affecter la fatigue et le retour au travail chez les patientes atteintes d'un cancer du sein localisé. Le bien-être émotionnel pourrait être affecté chez les patientes traitées par Trastuzumab, avec un sentiment d'«impuissance» plus marqué qui pourrait être davantage lié au suivi supplémentaire imposé par le Trastuzumab.

Article Publié dans *Supportive Care In Cancer*, Décembre 2022.

**Mots clés :** *Trastuzumab, retour au travail, qualité de vie, cancer du sein*

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Arthur LECLERC (abs)

### Poster

#### 26) L'utilisation de miRNAs pro-angiogéniques et/ou pro-hypoxiques comme outils de monitoring des patients atteints de gliomes diffus.

Guenaelle LEVALLET<sup>1,2</sup>, Fatéméh DUBOIS<sup>1,2</sup>, Arthur LECLERC<sup>1,3</sup>, Edwige PETIT<sup>1</sup>, Lien BEKAERT<sup>3</sup>, Maxime FAISANT<sup>2</sup>, Christian CREVEUIL<sup>4</sup>, Evelyne EMERY<sup>1,3</sup>, Gérard ZALCMAN<sup>5,6</sup>, Emmanuelle LECHAPT-ZALCMAN<sup>1,2,7</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNICAEN, CEA, CNRS, ISTCT/CERVOxy group, F-14074 Caen, France, GIP CYCERON

<sup>2</sup> Department of Pathology, CHU de Caen, Caen, France

<sup>3</sup> Department of Neurosurgery, CHU de Caen, Caen, France

<sup>4</sup> Biomedical research unit, CHU de Caen, Caen, France

<sup>5</sup> Department of Thoracic Oncology & CIC1425, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Université Paris-Diderot, Paris, France

<sup>6</sup> U830 INSERM «Genetics and biology of cancers, A.R.T group», Curie Institute, Paris, France

<sup>7</sup> Department of Pathology, AP-HP, Henri-Mondor Hospital, 94010 Créteil, France

#### Contexte :

La mutation des gènes IDH1/IDH2 (isocitrate déshydrogénase), l'hypoxie et la néo-angiogenèse sont trois caractéristiques des gliomes diffus qui modulent l'expression des petits ARN non codants (miRNAs). L'objectif de l'étude est d'identifier des miRNAs pro-angiogéniques et/ou pro-hypoxiques tumoraux pouvant être utilisés pour surveiller les patients atteints de gliomes.

#### Méthodologie :

Des expérimentations in-vitro ont été réalisées pour identifier les miRNAs pro-angiogénique et/ou pro hypoxiques impliqués. Les miRNAs identifiés in-vitro ont ensuite été extraits de spécimens chirurgicaux tumoraux inclus dans la paraffine de 97 patients atteints de gliomes diffus classés selon l'OMS 2016. L'expression de 10 miRNAs pro-angiogéniques et/ou pro-hypoxiques a été évaluée par qRT-PCR et normalisée par rapport à l'expression des miRNAs de tissus non tumoraux. Pour 7 patients, un échantillon de sang était disponible et a permis d'évaluer la corrélation entre miRNAs pro-angiogéniques et/ou pro-hypoxiques tumoraux et sanguin.

#### Résultats :

Nous avons confirmé in vitro que l'hypoxie (1 % de O<sub>2</sub>, 24 h) et la présence de la mutation IDH modifiaient l'expression des miRNAs pro-angiogéniques et/ou pro-hypoxiques dans les cellules de gliome U87IDH1WT et U87IDH1R132H. Ensuite, nous avons montré que l'expression de 7 de ces miRNAs était (i) fortement affectée chez les patients atteints de gliomes par rapport à celle d'un cerveau non tumoral ; (ii) corrélée à l'histologie et/ou au grade du gliome selon la classification de l'OMS de 2016 ; et (iii) prédit la survie globale et/ou la survie sans progression de patients atteints de gliome dans une analyse univariée mais pas dans une analyse multivariée après ajustement pour le sexe, l'âge au diagnostic et la classification de l'OMS. Enfin, chez les 7 patients pour lesquels un tube de sang était disponible, nous avons montré que la concentration des miRNAs pro-angiogéniques et/ou pro-hypoxiques était similaire entre le plasma et la tumeur gliale.

#### Conclusion :

Les miRNAs pro-angiogéniques et/ou pro-hypoxiques sont corrélés au degré d'agressivité des gliomes. Ces miRNAs sont retrouvés dans le plasma des patients et pourraient donc être employés comme biomarqueurs pour le suivi des patients atteints de gliome

**Mots clés : miRNA; hypoxie; angiogenèse; glioma**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Anthony LEFEBVRE

### Poster

#### 27) Impact des Exosomes Tumoraux de Carcinome du Nasopharynx sur la Maturation des Cellules Dendritiques Humaines : Etude Phénotypique, fonctionnelle et Physiopathologique.

Anthony Lefebvre <sup>1\*</sup>, Anthony Lefebvre <sup>1\*</sup>, Camille Trioën <sup>1\*</sup>, Sarah Renaud <sup>1</sup>, William Laine <sup>2</sup>, Benjamin Hennart <sup>3</sup>, Clément Bouchez <sup>1</sup>, Bertrand Leroux <sup>1</sup>, Delphine Allorge <sup>3</sup>, Jérôme Kluza <sup>2</sup>, Elisabeth Werkmeister <sup>4</sup>, Guillaume Paul Grolez <sup>1</sup>, Nadira Delhem <sup>1\*</sup> and Olivier Moralès <sup>1,2\*</sup>. \* Equally Contributing Authors

<sup>1</sup> Univ. Lille, Inserm, CHU Lille U1189 – ONCO-THAI – Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, F-59000 Lille, France

<sup>2</sup> INSERM UMR9020 – UMR-S 1277 - Canther – Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

<sup>3</sup> CHU Lille, Laboratoire de Toxicologie, F-59000 Lille, France

<sup>4</sup> Univ. Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41 – UAR 2014 – PLBS, F-59000 Lille, France

**Introduction :** Le carcinome du nasopharynx (CNP) est une tumeur des voies aérodigestives supérieures associée à une infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV). Le CNP est caractérisé par un microenvironnement immunitaire immunosuppresseur favorisant l'échappement de la tumeur à la réponse immune. Deux acteurs majeurs aux propriétés immunosuppressives ont été décrits, les lymphocytes T régulateurs (Treg) et les exosomes tumoraux de CNP (ExoCNP). Récemment, notre équipe a montré que les ExoCNP favorisent la fonction suppressive des Treg ainsi que leur recrutement via la chimiokine CCL20. **Dans ce contexte, l'objectif de ce projet vise à évaluer les capacités des ExoCNP à induire également l'émergence de cellules dendritiques (DC) tolérogènes (tDC), connues pour favoriser le développement tumoral par l'inhibition de la réponse des lymphocytes T.**

**Résultats - Matériels et Méthodes :** Dans cette étude, nous avons pu montrer que les ExoCNP favorisent la génération de DC matures régulatrices (mregDC) tolérogènes. En effet, les DC générés en présence d'ExoCNP (DCExoCNP) possèdent un défaut d'activation des LT en co-culture en comparaison avec des DC matures (mDC). Ce défaut n'est pas relié à un changement dans le phénotype de ces cellules puisqu'il est comparable à celui des mDC. En revanche, lors de leur développement nous remarquons des changements dans leur production de cytokines. Lors de la phase de différenciation les DCExoCNP présentent une activité importante de l'enzyme IDO ainsi qu'une sécrétion de la cytokine immunosuppressive l'IL-10. Ensuite, lors de la phase de maturation ces les DCExoCNP ne produisent que très peu les cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-12 en lien avec une production importante d'IL-4 régulant la production d'IL-12 via la production de l'enzyme IL4I1 et de ces métabolites.

De façon intéressante, nous avons observé une diminution du métabolisme oxydatif par rapport aux mDC pouvant être en lien avec une diminution des capacités effectrices. Parallèlement nous avons étudié l'effet des exosomes plasmatique de patients atteints de CNP (ExopatientsCNP) et nous observons également l'émergence de DC matures ayant un défaut de production de cytokines pro-inflammatoire et d'activation des LT.

Et enfin, dans le but d'étudier les capacités de migration des DC générées avec les ExoCNP, nous avons étudié leur potentielle attraction par des chimiokines connues telles que la CCL19 ou la CCL20 ainsi que pour les ExoCNP. Nos résultats montrent que les mregDC sont attirées par les ExoCNP et ce de façon plus importante en comparaison à la chimiokine CCL19. En revanche, l'attraction par les ExoCNP ne semble pas dépendante de la CCL20 comme c'était le cas pour l'attraction des Treg précédemment démontrée au laboratoire.

**Conclusion :** En conclusion, l'ensemble de nos résultats entourent des voies intéressantes non seulement dans la compréhension de la physiopathologie du CNP mais également de nouvelles perspectives thérapeutiques via un ciblage des exosomes tumoraux.

**Mots clés :** Carcinome du Nasopharynx, Vésicule extracellulaire, Exosomes, Cellules dendritiques matures régulatrices (mregDC), IL-4

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Thomas LEMAITRE

### Poster

#### 28) Design and conception of PROTAC degraders with dual activity on Mcl-1 and Bcl-xL in chemoresistant ovarian cancers.

Thomas LEMAITRE, Charline KIEFFER, Marc SINCE, Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie (CERMN) UR 4258 - FR CNRS 3038 INC3M - Carnot I2C

Ovarian cancer is one of the most common gynecologic cancers that has the highest mortality rate. The diagnosis is often late and the cancers are thus at a too advanced stage, making therapeutic strategies ineffective. "Silent killer" is a name that has been given to this cancer.<sup>1</sup> The standard treatment consists of cytoreduction surgery combined with chemotherapy but resistance to platinum salts, constituting the primary cause of therapeutic failure.

It has been shown that cell survival depends largely on the overexpression of Mcl-1 and Bcl-x<sub>L</sub>. These two proteins are privileged targets to be inhibited to overcome resistance, and their simultaneous inhibition restores apoptosis.<sup>2</sup> However, inhibition of both proteins leads to cardiotoxicity<sup>3</sup> and thrombocytopenia<sup>4</sup> due to on-target/off tumor effects.

In order to restore apoptosis, achieve tissue selectivity and avoid toxicity, we chose to develop compounds that degrade concurrently these two proteins using PROTAC (PROteolysis Targeting Chimeras) technology.<sup>5</sup> Initially described as biological investigation tools, they are now widely used in therapeutic innovation. The pharmacodynamic activity is thus no longer linked to the number of occupied receptors, but is the consequence of the degradation of the target proteins. This effect is manifested at lower doses without non-tumor toxicity.

Our work is therefore to design and synthesise new PROTACs directed against Mcl-1 and Bcl-x<sub>L</sub>. Molecular scaffolds used to start this work are analogues of Pyridoclast<sup>6</sup> and derivatives of azetidine molecules. These two scaffolds have been studied in previous work of the research team and have shown interesting activities by targeting different hydrophobic pockets of the two Protein Of Interest (POI). Structure-activity relationships approaches and molecular modeling studies are carried out on these ligands to obtain the best synchronous activity. On the other hand, ligands of E3 ligases (Pomalidomide and VH032) and different linkers of variable nature and length will be used to promote the formation of the ternary complex. We also present here the perspectives of biophysical and biological studies<sup>7</sup> of our PROTACs.

#### Bibliographic references:

- (1) Momenimovahed, Z. et al. Ovarian Cancer in the World: Epidemiology and Risk Factors. *Int J Womens Health* **2019**
- (2) Brotin, E. et al. Bcl-xL and Mcl-1 Constitute Pertinent Targets in Ovarian Carcinoma and Their Concomitant Inhibition Is Sufficient to Induce Apoptosis. *Int J Cancer* **2010**
- (3) Bolomsky, A. et al. Mcl-1 Inhibitors, Fast-Lane Development of a New Class of Anti-Cancer Agents. *J Hematol Oncol* **2020**
- (4) Zhang, H. et al. Bcl-2 Family Proteins Are Essential for Platelet Survival. *Cell Death Differ* **2007**
- (5) Sakamoto, K. M. et al. Protacs: Chimeric Molecules That Target Proteins to the Skp1-Cullin-F Box Complex for Ubiquitination and Degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2001**
- (6) Gloaguen, C. et al. First Evidence That Oligopyridines,  $\alpha$ -Helix Foldamers, Inhibit Mcl-1 and Sensitize Ovarian Carcinoma Cells to Bcl-xL-Targeting Strategies. *J Med Chem* **2015**
- (7) Kieffer, C. et al. Noncellular Screening for the Discovery of Protein-Protein Interaction Modulators. *Drug Discov. Today* **2020**.

**Mots clés: Ovarian cancer, Medicinal chemistry, Protein degradation, PROTAC Technology, Mcl-1, Bcl-xL.**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Marion LENTÉ

### Poster

#### 29) La voie de l'adénosine comme piste thérapeutique pour le traitement des chondrosarcomes ?

Marion LENTÉ, Juliette AURY-LANDAS, Eva LHUISSIER, Karim BOUMÉDIENE, Catherine BAUGE, Catherine BAUGÉ

UR7451 Biologie du cartilage, biotechnologie et télémédecine (BioConnect) – Université de Caen Normandie-Caen-France

**Introduction :** Les chondrosarcomes sont les 2èmes cancers primitifs de l'os. Ces tumeurs touchent principalement les adultes de plus de 40 ans. Malheureusement, la seule stratégie thérapeutique proposée actuellement est la chirurgie, qui peut être très délabrante, allant jusqu'à l'amputation d'un membre. Cette chirurgie n'est pas toujours possible selon la localisation de la tumeur, et ne peut être efficace contre les métastases qui peuvent se développer. C'est pourquoi il est nécessaire de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans ce but, nous nous sommes intéressés à la voie de l'adénosine comme piste pour traiter les chondrosarcomes. En effet, le laboratoire a récemment montré que le DZNep, un analogue de l'adénosine initialement étudié pour son activité d'inhibition d'EZH2, induit l'apoptose des chondrosarcomes in vitro et in vivo. L'objectif est de déterminer si d'autres analogues de l'adénosine pourrait avoir une action anti-tumorale dans les chondrosarcomes.

**Matériels et méthodes :** L'effet de quatre analogues de l'adénosine : l'Aristéromycine et la Formycine A, composés naturels avec une activité antivirale, la Cladribine et la Pentostatine, médicaments déjà utilisés en clinique pour traiter d'autres pathologies, ont été évalué sur quatre lignées humaines de chondrosarcomes (SW1353, FS090, JJ012 et CH2879) afin de représenter au mieux l'hétérogénéité de ce cancer. Des chondrocytes articulaires humains ont été utilisés comme modèle de cellules non cancéreuses. Différents tests de viabilité ont été réalisés dans un modèle cellulaire in vitro 2D ou 3D (marquage des cellules avec Acridine Orange-DAPI, dosage de l'ATP par Celltiterglo®), ainsi que des tests d'apoptose (marquage des cellules avec Annexin V- Iodure de Propidium).

**Résultats :** Dans un premier temps, nous avons pu mettre en évidence la présence d'éléments spécifiques de la voie de l'adénosine dans différentes lignées de chondrosarcomes, notamment des transporteurs spécifiques nucléosidiques dit équilibratifs (ENTs) ou concentratifs (CNTs) qui permettent de réguler la concentration intracellulaire d'adénosine. A partir de ces premiers éléments, nous avons donc testé les effets des 4 analogues sur la lignée de chondrosarcomes SW1353, trois d'entre eux ont montré une diminution de la viabilité cellulaire de ces cellules cancéreuses. Ces trois molécules diminuent aussi la viabilité cellulaire de deux autres lignées de chondrosarcomes plus agressives, la JJ012 et la CH2879 alors qu'elles ont peu d'effet sur les cellules non cancéreuses (chondrocytes humains). Leur efficacité a aussi été démontré dans un modèle cellulaire 3D (billes d'alginate) de chondrosarcomes. Parmi ces 3 molécules efficaces, deux d'entre elles induisent de l'apoptose dans les chondrosarcomes.

**Conclusion :** Ces premiers résultats nous laissent ainsi penser que des analogues de l'adénosine, dont certains sont déjà utilisés en clinique comme traitement contre la sclérose en plaques et/ou la leucémie à tricholeucocytes, pourraient être efficaces pour traiter les chondrosarcomes. Cette hypothèse doit maintenant être validée sur des modèles in vivo avant un éventuel passage en clinique, dans une stratégie de repositionnement de médicaments.

Ainsi, au vu des connaissances actuelles de cette voie dans les chondrosarcomes et des résultats que nous avons obtenus pour l'instant, nous pensons que la voie de l'adénosine peut être une nouvelle piste thérapeutique sur laquelle travailler pour trouver un traitement alternatif à la chirurgie.

#### Remerciements :

Le projet a été soutenu par une subvention du Cancéropôle Nord-Ouest et de la Ligue contre le cancer (comité du Calvados). Marion Lenté bénéficie d'une allocation doctorale cofinancée par la Ligue contre le Cancer (comité de Seine-Maritime) et la Région Normandie. Nous remercions également Pierre Ruggeri (stagiaire en master 1) pour sa participation à la réalisation des tests de survie.

**Mots clés :** Chondrosarcomes, Voie de l'adénosine, Cladribine, Apoptose, Tumeurs osseuses, Analogues de l'adénosine, Maladie rare, Repositionnement de médicaments





## Session Jeunes chercheurs

Alice LEROY

### Poster

#### 30) Vaisseaux sanguins-sur-puce pour l'étude des thérapies anti-cancéreuses sur la barrière vasculaire.

Alice LEROY<sup>1,2,3,4</sup>, Géraldine TELLIER<sup>1,2,3,4</sup>, Elise DELANNOY<sup>5,6,7</sup>, Silvia GAGGERO<sup>8</sup>, Fabrice SONCIN<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> CNRS IRL2820 LiMMS/IIS SMMiL-E project

<sup>2</sup> Centre Oscar Lambret

<sup>3</sup> Université de Tokyo

<sup>4</sup> CNRS Délégation Hauts-De-France

<sup>5</sup> INSERM U1019 - CNRS UMR9017

<sup>6</sup> Institut Pasteur de Lille

<sup>7</sup> Université de Lille

<sup>8</sup> CNRS UMR9020 - INSERM UMR1277 CANTHER

Les vaisseaux sanguins jouent des rôles essentiels de barrière moléculaire - notamment vis à vis des thérapies utilisées par voie systémique - et de barrière cellulaire régulant le passage des cellules de l'immunité depuis la circulation vers les tumeurs. La perméabilité et l'activation endothéliales sont deux phénomènes finement régulés et qui peuvent être perturbés dans les cancers et au cours des traitements. Si les vaisseaux sanguins sont historiquement la cible des thérapies anti-angiogéniques, un ensemble d'évidences indique que les cellules vasculaires pourraient également être sensibles aux immunothérapies et qu'une combinaison de ces thérapies pourrait permettre une régulation fine de la perméabilité et de l'activation endothéliales.

Dans ce projet, nous avons combiné des approches classiques de culture cellulaire en 2D avec des approches originales de vaisseaux-sur-puce en 3D afin d'étudier ces phénomènes dans des vaisseaux sanguins humains reconstitués. Nous avons évalué l'expression du gène et de la protéine PD-L1, respectivement par RT-qPCR Taqman et immunoblots et la localisation de la protéine à la surface des cellules endothéliales par cytométrie en flux. L'expression du gène PD-L1 dans les cellules endothéliales a été réprimée par interférence à l'ARN. D'autre part, les vaisseaux-sur-puce ont été traités par des anti-angiogéniques ou des immunothérapies ciblant PD-L1, afin d'estimer l'impact de ces thérapies anti-cancéreuses sur le rôle de barrière vasculaire.

Les cellules endothéliales HUVEC n'expriment pas PD-1 mais expriment effectivement le gène et la protéine PD-L1, cette dernière étant détectée à leur surface. L'étude du rôle intrinsèque de PD-L1 dans ces cellules montre que cette molécule intervient dans la régulation de l'activation endothéliale et de la perméabilité vasculaire. L'étude du rôle extrinsèque de PD-L1, via l'utilisation d'inhibiteurs de point de contrôle immunitaire PD-1/PD-L1, est en cours. Les anti-angiogéniques, quant à eux, augmentent la perméabilité endothéliale et répriment l'activation immune.

PD-L1 semble donc avoir à la fois un rôle intrinsèque dans les cellules endothéliales en vaisseaux-sur-puce et, potentiellement, un rôle extrinsèque par son exposition à la surface.

Les perspectives de ce travail sont, d'une part, d'élucider les voies moléculaires impliquées dans les effets intrinsèques et extrinsèques de PD-L1 dans les cellules endothéliales et, d'autre part, comprendre comment les thérapies anti-cancéreuses affectent la barrière vasculaire via ces voies.

**Mots clés : organes-sur-puce, perméabilité, activation endothéliale, infiltration immune, cellules endothéliales, microfabrication, microfluidique, thérapies ciblées, immunothérapies**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Paul LEWANDOWSKI

### Poster

#### 31) Evaluation de l'impact de la mutation H3.3K27M sur la chimio-sensibilité des cellules de gliomes pédiatriques de haut grade.

Paul LEWANDOWSKI<sup>1,2</sup>, Andria RAKOTOMALA<sup>1,2</sup>, Sirine BOUAOUA<sup>1,2</sup>, Quentin BAILLEUL<sup>1,2</sup>, Marion LE GRAND<sup>3</sup>, Swann MEYER<sup>4</sup>, Paul HUCHEDE<sup>4</sup>, Mélanie ARCICASA<sup>1,2</sup>, Christine BAL<sup>1,2</sup>, Audrey VINCENT<sup>1</sup>, Xuefen LE BOU-RHIS<sup>1</sup>, Pierre LEBLOND<sup>4,5</sup>, Marie CASTETS<sup>4</sup>, Eddy PASQUIER<sup>3</sup>, Alessandro FURLAN<sup>1,2</sup>, Samuel MEIGNAN<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut de Recherche contre le Cancer de Lille, UMR9020 – UMR-S 1277 - Canther – Hétérogénéité, Plasticité et Résistance aux Thérapies des Cancers, F-59000 Lille, France

<sup>2</sup> Unité Tumorigénèse et Résistances aux Traitements, Centre Oscar Lambret, Lille, France

<sup>3</sup> Université Aix-Marseille, Inserm, CNRS, Institut Paoli-Calmettes, Centre de recherche en cancérologie de Marseille, Marseille, France

<sup>4</sup> Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon - Inserm U1052, Lyon, France

<sup>5</sup> L'Institut d'hématologie et d'oncologie pédiatrique de Lyon, Lyon, France

Les gliomes infiltrants du tronc cérébral (ou DIPG pour Diffuse Intrinsic Pontine Glioma) sont des tumeurs cérébrales pédiatriques au pronostic particulièrement sombre. En effet, leur localisation au niveau du pont de Varole, dans le tronc cérébral, et leur caractère diffus excluent la possibilité d'une exérèse chirurgicale complète. Malgré divers essais cliniques, ces tumeurs se montrent en outre largement chimiorésistantes. De fait, la radiothérapie demeure le seul traitement de référence bien qu'à visée surtout palliative. En 2012, la mutation monoallélique H3K27M, consistant en la substitution d'une lysine par une méthionine en position 27 de l'histone H3, a été découverte avec une fréquence d'environ 80% dans les DIPG. Cette mutation a pour effet de perturber fortement l'activité du complexe PRC2, induisant notamment une diminution drastique de la triméthylation des lysines 27 des histones H3 (H3K27me3). De fait, l'épigénome, le transcriptome et donc le phénotype des cellules cancéreuses se trouvent altérés par la présence de cette mutation.

À ce jour, le rôle driver de la forme la plus fréquente, H3.3K27M, dans la genèse des DIPG est prouvé, cependant son impact dans la résistance aux traitements pharmacologiques demeure peu documenté. Dans ce contexte, le laboratoire a entrepris l'établissement de modèles cellulaires de DIPG knock-out (KO) pour cette mutation afin d'en évaluer toute la portée.

Sur la base de ces modèles cellulaires isogéniques, **mon projet vise à évaluer et décrypter l'impact de la mutation H3.3K27M sur la chimiosensibilité des cellules de DIPG.**

Le rôle de la mutation dans la réponse aux traitements a tout d'abord été évalué à l'aide d'un panel de molécules sélectionnées sur la base de la littérature. Celui-ci, composé de chimiothérapies conventionnelles mais surtout de thérapies ciblées, avait pour but d'identifier des composés anticancéreux qui verraient leur efficacité impactée par le KO de la mutation. Se faisant, parmi les 110 molécules testées nous avons identifié une dizaine de molécules particulièrement intéressantes. Un recoupement de leurs cibles connues indiquait que la voie de signalisation PI3K (cible de l'Omipalisib et du Paxalisib) mais aussi certains acteurs associés à l'acétylation des histones (cible du Molibresib et du Birabresib) seraient impactés par la mutation H3.3K27M. De manière intéressante, l'acétylation de la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27ac) est augmentée par la présence de la mutation dans nos modèles ce qui pourrait expliquer cette différence de sensibilité à ces dernières molécules. Dans ce contexte, et pour étudier l'impact de la mutation sur l'acétylation des histones mais surtout l'intérêt de cibler pharmacologiquement ces mécanismes épigénétiques, la localisation de ces marques dans le génome sera étudiée par CUT&RUN en condition basale vs. après traitement avec les molécules d'intérêts.

En parallèle, et de manière complémentaire à cette première approche, nous avons mené une étude transcriptomique par RNA-seq. Son analyse montrait environ 300 gènes différentiellement exprimés entre nos modèles KO et leurs équivalents mutés. Parmi ceux-ci, *KIT* et *PDGFRB*, pouvant tous deux activer la voie de signalisation PI3K se retrouvent surexprimés en présence de la mutation H3.3K27M. Ainsi, l'altération de ces voies de signalisation pourraient être liée à la réponse différentielle de nos modèles aux inhibiteurs de la voie PI3K. Les composés ainsi identifiés, feront l'objet d'une validation plus poussée et étendue à d'autres modèles de réversion issus d'une collaboration avec l'université de McGill (Montréal). S'en suivra une validation fonctionnelle dans nos modèles via l'inhibition précise d'acteurs moléculaires d'intérêts par siRNA.

In fine, ce projet ambitionne une compréhension fine du rôle de la mutation H3.3K27M sur la réponse aux traitements des cellules de DIPG et ainsi, d'identifier des mécanismes associés qui pourrait ouvrir la voie à des combinaisons médicamenteuses innovantes dans le traitement des DIPG.

**Mots clés : H3.3K27M, Gliome, DIPG, DMG, Résistance aux thérapies**





## Session Jeunes chercheurs

Joséphine LOUVIEAUX

### Poster

#### 32) Etude de la chimiorésistance des cellules souches cancéreuses mammaires s-SHIP+ dans les souris transgéniques MMTV-Wnt1.

Joséphine LOUVIEAUX, Xuefen LE BOURHIS, Roland P. BOURETTE

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

Le cancer du sein est le cancer le plus diagnostiqué chez la femme. Parmi les différents sous-types, les cancers du sein dénommés triple-négatifs (TNBC) sont les plus agressifs avec le taux de rechute le plus élevé. Les rechutes sont associées à une sous-population particulière de cellules tumorales, les cellules souches cancéreuses (CSC). Ces CSC sont caractérisées par une résistance accrue aux thérapies anti-cancéreuses et sont aujourd'hui une cible prioritaire pour des thérapies ciblées. Nous disposons d'un modèle de souris transgéniques permettant de marquer spécifiquement les CSC mammaires : les souris s-SHIP-GFP. Nous avons croisé ces souris avec les souris MMTV-Wnt1 qui sont un modèle de tumorigenèse mammaire. Ainsi, nous avons généré des souris bitransgéniques qui développent des tumeurs mammaires contenant une sous-population de cellules s-SHIP/GFP+. L'analyse immunohistochimique et par cytométrie en flux a montré que ces cellules s-SHIP/GFP+ présentent un phénotype très indifférencié (cytokératines K8/18<sup>neg</sup>, K14<sup>neg</sup>, K6a<sup>neg</sup>, Smooth Muscle Actin<sup>neg</sup>), cohérent avec un phénotype de CSC. Pour étudier la chimiorésistance des cellules tumorales dérivées des tumeurs de nos souris bitransgéniques s-SHIP-GFP x MMTV-Wnt1, et en particulier des cellules s-SHIP/GFP+, nous avons mis au point un système de culture tridimensionnelle (3D) sous forme de sphéroïdes ou tumoroides. Ces systèmes offrent une approche complémentaire aux modèles animaux avec de multiples avantages. Nous avons montré que les tumoroides obtenus reproduisent l'hétérogénéité de la tumeur d'origine, avec des cellules stromales, luminales et basales et une fraction de CSC s-SHIP/GFP+. Puis, nous avons investigué les effets du paclitaxel, une drogue anticancéreuse couramment utilisée dans le traitement des TNBC. Nos résultats montrent que le paclitaxel augmente significativement le pourcentage de cellules s-SHIP/GFP+ au sein des tumoroides 3D, suggérant que ces cellules sont plus résistantes aux drogues. Nous voulons maintenant réaliser une analyse transcriptomique de ces cellules s-SHIP/GFP+ pour déterminer les mécanismes mis en place par ces cellules leur permettant de résister aux chimiothérapies classiques. Nous espérons ainsi identifier de nouvelles cibles thérapeutiques spécifiques des CSC et pouvoir contribuer à l'amélioration de l'efficacité thérapeutique dans la lutte contre le cancer du sein triple négatif.

**Mots clés : cancer du sein, cellules souches cancéreuses, s-SHIP, souris transgéniques, MMTV-Wnt1, tumoroides, résistance**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Elise MALARD

### Poster

#### 33) Etude in vitro des voies bioénergétiques et du système redox dans la réponse des cellules de glioblastomes aux rayons X.

Elise MALARD<sup>1</sup>, Benoit BERNAY<sup>2</sup>, Julien PONTIN<sup>2</sup>, Myriam BERNAUDIN<sup>1</sup>, Laurent CHATRE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, Université de Caen Normandie, CNRS, ISTCT UMR6030, GIP CYCERON, F-14000 Caen, France

<sup>2</sup> Université de Caen Normandie, US EMerode, Plateforme PROTEOGEN, F-14000 Caen, France

**Introduction :** Avec un protocole de traitement standardisé combinant notamment la radiothérapie et la chimiothérapie, les patients atteints de glioblastome (GB) présentent une médiane de survie variant de 16 à 20 mois<sup>1</sup>, reflétant une résistance aux traitements. Cette résistance tumorale pourrait en partie s'expliquer par un remodelage du métabolisme bioénergétique qui consiste en un shift de la production d'ATP des mitochondries vers la glycolyse également appelé effet Warburg<sup>2</sup>. Le métabolisme bioénergétique y compris à travers les mitochondries, est étroitement lié à la production de quatre familles d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), de l'azote (RNS), du soufre (RSS) et des carbonyles (RCS), rassemblées dans le concept d'interactome des espèces réactives ou RSI<sup>3,4</sup>. Le métabolisme du stress joue lui aussi un rôle dans la résistance aux traitements notamment en lien avec le microenvironnement tumoral hypoxique s'auto alimentant l'un l'autre<sup>5</sup>. Cibler ces deux métabolismes à l'aide d'une molécule pouvant modifier à la fois plusieurs espèces réactives du RSI ainsi que certains métabolites bioénergétiques, permettrait de mieux comprendre leurs implications dans la croissance, le développement et la résistance du GB.

Le but de cette étude est de tester les effets d'un mimétique de la SOD (SOD-mimétique), connu pour cibler les ROS et RNS ainsi que les mitochondries, avec ou sans irradiation aux rayons X, afin d'observer et caractériser son impact sur le métabolisme redox et le métabolisme bioénergétique sur des modèles in vitro de GB.

**Matériel et Méthodes :** Deux lignées humaines de GB U251-MG et U87-MG (ATCC) ont été placées en normoxie ou en hypoxie (1% d'O<sub>2</sub>, in vivo500 RUSKINN, ABE), irradiées à une dose unique de 2Gy (irradiateur CellRad, FAXITRON) et traitées avec le SOD-mimétique à une concentration de 100µM tous les trois jours. Six jours après les traitements, un comptage cellulaire a été réalisé, ainsi qu'une analyse complète du RSI, du métabolisme bioénergétique et du protéome global.

**Résultats :** Le SOD-mimétique présente un effet dépendant du type cellulaire. Alors qu'il ne présente pas d'effet notable, contrairement à la radiothérapie (p=0.0256 ; n=5), sur la lignée cellulaire U87-MG, le SOD-mimétique réduit significativement le nombre de cellules U251-MG en normoxie (p=0.0027 ; n=5). Lorsqu'il est utilisé en complément de la radiothérapie, il permet de réduire le nombre de cellules U251-MG en normoxie (p<0.0001 ; n=5) et en hypoxie (p<0.0001 ; n=5). Il est également capable de modifier les concentrations de plusieurs espèces réactives ROS, RNS et RSS, et cela dans les deux lignées cellulaires indépendamment du taux d'oxygénation. Enfin, cette molécule peut, selon la lignée cellulaire étudiée, impacter le métabolisme bioénergétique notamment en agissant sur la peroxydation des lipides ou encore sur différents complexes OXPHOS de la respiration mitochondriale.

**Conclusion :** Ce travail met en évidence les effets d'un SOD-mimétique sur les voies bioénergétiques et du système redox qui pourraient être impliquées dans la croissance et la résistance à la radiothérapie dans deux lignées cellulaires qui possèdent des caractéristiques moléculaires différentes (U251 : IDH1 non muté, p53 et PTEN muté; U87, IDH1 et p53 non muté, PTEN muté<sup>6-8</sup>).

**Remerciements :** Ce projet a reçu le soutien financier de la Région Normandie, du Fond Inkermann sous l'égide de la Fondation de France, du CNRS et de l'Université de Caen-Normandie.

1. Stupp, R. et al. JAMA 318, 2306–2316 (2017).
2. Warburg, O., Posener, K. & Negelein, E. Biochem Z 152:319 (1924).
3. Cortese-Krott, M. M. et al. Antioxid. Redox Signal. 27, 684–712 (2017).
4. Malard, E., et al. Antioxid. Redox Signal. 35, 1176–1206 (2021).
5. Wallace, D. C. Nat. Rev. Cancer 12, 685–698 (2012).
6. Williams, J. R. et al. Int. J. Radiat. Biol. 84, 253–264 (2008).
7. Steck, P.A. et al. Nat. Genet. 15, 356–362 (1997).
8. Ichimura, K. et al. Neuro-Oncol. 11, 341–347 (2009).

**Mots clés :** glioblastome, radiothérapie, SOD-mimétique, interactome des espèces réactives, métabolisme redox, métabolisme bioénergétique





## Session Jeunes chercheurs

Lucie MARTIN

### Poster

#### 34) Impact de l'intégrité de la membrane nucléaire des cellules de glioblastome sur l'agressivité tumorale.

Lucie MARTIN<sup>1,2</sup>, Alexandre MUTEL<sup>1,2</sup>, Laurence DESRUES<sup>1,2</sup>, Quentin LEMERCIER<sup>1,2</sup>, Maité VERREAULT<sup>3</sup>, Florent MARGUET<sup>1,2,4</sup>, Olivier LANGLOIS<sup>1,2,5</sup>, Ahmed IDBAIH<sup>3</sup>, Véronique DE CONTO<sup>6</sup>, Oana CHEVER<sup>1,2</sup>, Pierrick GANDOLFO<sup>1,2</sup>, Fabrice MORIN<sup>1,2</sup>, Hélène CASTEL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM, U1245 CBG, 76000 Rouen, France

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

<sup>3</sup> Hôpital Pitié-Salpêtrière, ICM, Paris

<sup>4</sup> Département d'anatomocytopathologie, CHU de Rouen, France

<sup>5</sup> Département de Neurochirurgie, CHU de Rouen, France

<sup>6</sup> HCS Pharma, Loos, France

**Contexte :** Le glioblastome (GB) est la tumeur cérébrale la plus agressive et présente un pronostic sombre malgré le traitement standard associant la résection, une radiothérapie/chimiothérapie et une chimiothérapie au témozolomide (TMZ). La croissance rapide au sein du cœur tumoral, mais aussi l'invasion le long des vaisseaux sanguins (sous les pieds astrocytaires) des cellules de GB génèrent des contraintes physiques pouvant conduire à la déformation de l'enveloppe nucléaire (EN). Cette EN est principalement composée des lamines A/C, B1, B2, d'emerine ou des protéines du complexe LINC (SUN), et peut être réparée par le complexe ESCRT-III incluant les protéines VPS4, CHMPs et BANF1. Notre travail (projet MecanoGlio structurant du CNO) vise à évaluer le rôle des contraintes mécaniques sur l'intégrité de l'EN, et s'intéresse aux protéines d'ESCRT-III comme cibles thérapeutiques d'intérêt dans la résistance aux traitements et la récurrence des GB.

**Méthodes et résultats :** Les analyses *in silico* des bases de données du TCGA et IVY-gap révèlent que les ARNm codant les lamines A/C, B1/B2, l'emerine et SUN1 présentent des niveaux diminués dans les GB par rapport au tissu cérébral sain, et sont moins exprimés dans les cellules infiltrantes comparativement aux espaces vasculaires et cœur tumoral. Les ARNm des protéines de BANF1, CHMP4A et VPS4A/B sont significativement plus exprimés dans les GB par rapport au cerveau sain, et dans les cellules infiltrantes par rapport au cœur tumoral. Ces données suggèrent que les zones de forte densité favorisent l'expression des lamines, alors que les cellules infiltrantes isolées, peuvent présenter une fragilité de l'EN, avec une capacité de réparation augmentée.

Des lignées de GB adhérentes U87 (résistante au TMZ) ou 8MG (sensible au TMZ) ou issues de patients (sensibles ou résistantes au TMZ) sont cultivées en 3D au sein de matrices présentant différents modules d'élasticité. Dans les zones de forte densité cellulaire, l'expression nucléaire des lamines A/C et B1 (\*\*p<0,001) augmente alors que la rigidité matricielle de 100 Pa à 1 kPa entraîne une diminution des lamines qui s'accompagne de l'apparition de micronoyaux, signes de réarrangements de l'ADN de natures pro-tumorigènes. Pour mimer les contraintes physiques au cours de l'invasion tumorale, les cellules U87 et 8MG ou de patient U3054MG ont été soumises à une migration sous gradient d'EGF au travers des pores de transwell de 8 et 3 µm. La migration sous contrainte (3 µm) réprime (\*\*p<0,001) l'expression de lamine A/C, de l'emerine et de SUN1 et provoque la diffusion de protéines nucléaires (NLS-GFP) dans le cytoplasme et l'activation du système cGAS-STING périmoléculaire. Une augmentation significative (\*\*p<0,001) du nombre de micronoyaux cytoplasmiques semble corrélée à une relocalisation de la protéine BANF1 du cytoplasme/espace péri-nucléaire vers les membranes plasmique et nucléaire au niveau des zones de rupture. Ces altérations nucléaires sont associées à une diminution de la taille et de l'intensité des foci H3K9me3, suggérant une levée de la répression transcriptionnelle et une perte d'intégrité du génome. Afin de générer des altérations à long termes induites par des contraintes répétées, des migrations consécutives ont été menées dans des transwells de 8 et 3 µm et les cellules non migrantes (Top 8 et 3) ont été comparées aux cellules en migration (Bottom 8 et 3). Il apparaît que les cellules U87 et U3054MG montrent des niveaux de prolifération significativement augmentés (nombre de cellules et analyses Edu) et que la lignée 8MG sensible au TMZ acquiert une résistance au traitement lorsqu'elles ont migré deux fois dans des pores de 3 µm. Les cellules Top8/3 et Bottom 8/3 sont actuellement analysées par RNAseq et leur potentiel oncogénique est testé sur tranches organotypiques de cerveau et en xénotransplante striatale chez la souris Nude.

**Conclusion :** Nous montrons un lien original entre contraintes physiques, expression des protéines structurales et de réparation de l'EN, ainsi que la régulation épigénétique au cours de la croissance et de la migration de cellules de GB. Ces travaux offrent des perspectives de ciblage des protéines de réparation pour prévenir l'hétérogénéité moléculaire, la résistance aux traitements et la récurrence.

**Remerciements :** Ligue contre le cancer Normandie, Fondation ARC, Cancéropôle Nord-Ouest (Programme structurant MecanoGlio), Géfluc, Région Normandie, Université de Rouen Normandie et Inserm.

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





## Session Jeunes chercheurs

Margaux MERLIER

### Poster

#### 35) Evaluation de l'efficacité d'une thérapie photodynamique ciblée utilisant un photosensibilisateur spécifique couplé à l'acide folique sur un modèle de cancer ovarien épithélial.

Margaux MERLIER<sup>1</sup>, Léa BOIDIN<sup>1</sup>, Yohan KERBAGE<sup>1,2</sup>, Morgane MOINARD<sup>3</sup>, Laurine ZIANE<sup>1</sup>, Anne-Sophie VIGNON<sup>1</sup>, Céline FROCHOT<sup>3</sup>, Nadira DELHEM<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INSERM U1189 OncoThAI – Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, Université de Lille, CHU de Lille, Institut de Biologie de Lille, France

<sup>2</sup> Service de Chirurgie Gynécologique, CHU Lille, 1 Avenue Oscar Lambret, Lille F-59000, France; CHU Lille, University Lille, Lille F-59000, France

<sup>3</sup> Université de Lorraine, UMR 7274 CNRS, Laboratoire réactions et génie des procédés, 54000 Nancy, France

**Introduction :** Le cancer ovarien représente la 4ème cause de mortalité par cancer chez la femme. Sa gravité tient du fait qu'il a une évolution silencieuse rendant sa découverte tardive, au stade de carcinose péritonéale chez 75% des patientes. Le traitement repose sur la chirurgie de cytoréduction macroscopiquement complète, la chimiothérapie et la thérapie ciblée. Cependant, malgré un traitement bien conduit, la récurrence est quasiment toujours la règle. Parmi les hypothèses expliquant le taux de récurrence élevé, l'existence d'une maladie microscopie résiduelle à l'issue de la chirurgie est retenue. Ces micro métastases seraient donc la cible thérapeutique pertinente. La thérapie photodynamique (PDT) semble être un candidat prometteur pour le traitement de ces lésions. L'enjeu de cette PDT est double : disposer d'un photosensibilisateur (PS) spécifique afin de cibler les micrométastases tout en préservant le tissu sain environnant, et d'illuminer de façon homogène la cavité péritonéale (Cf. Abstract Laurine Ziane). Il a été prouvé que les cellules cancéreuses ovariennes sur expriment le récepteur aux folates (FRa) dans 80% des cas. Ainsi, a été développé et breveté, un PS de 3ème génération spécifique à FRa basé sur le couplage d'un PS de 2ème génération à l'acide folique (PSAF). Ainsi, les objectifs de ce projet visent à évaluer l'efficacité de cette PDT ciblée utilisant le PSAF ainsi qu'à caractériser les mécanismes de mort induits par la PDT-PSAF dans un modèle cellulaire 2D de cancers ovariens épithéliaux.

**Matériels et Méthodes :** Le modèle cellulaire consiste à l'utilisation de lignées cellulaires de cancers ovariens : SKOV3 et OVCAR3 sur exprimant Fra comparées à une lignée de fibrosarcome : HT1080 sous-exprimant le Fra afin d'évaluer la sélectivité.

1) Valider in vitro la capacité de la PDT-PSAF à induire la mort préférentielle des cellules tumorales ovariennes OVCAR3 et SKOV3 par rapport au HT1080.

L'internalisation spécifique du PSAF par les cellules de cancers ovariens sera étudiée à l'aide d'une expérience semi-quantitative [microscopie confocale] puis d'une analyse quantitative [fluorimétrie]. Dans un deuxième temps sera évaluée la capacité de la PDT-PSAF à induire la mort des cellules cancéreuses par un test de viabilité cellulaire [mesure du métabolisme mitochondrial].

2) Caractériser in vitro les mécanismes de mort induits par la PDT-PSAF sur les lignées OVCAR3 et SKOV3. Pour ce faire, seront analysés les différents types de mort cellulaire induits par la PDT que sont l'apoptose et la nécrose [test Annexine V/IP] en faisant varier la concentration de PS. Puis, sera étudiée l'expression des signaux de dangers révélés par microscopie confocale après réalisation d'une PDT-PSAF (calcitrétuline, l'HMGp1, l'HSP70 et l'ATP).

**Résultats :** La microscopie confocale a révélé une semi-quantification du signal pour FRa plus importante pour OVCAR3, puis SKOV3 par rapport à HT1080, validant la sur expression de ce récepteur par les cellules de cancers ovariens.

La fluorimétrie a montré une internalisation maximale à 24h avec 9  $\mu$ M de PS pour la lignée SKOV3 par rapport à OVCAR3 ( $p < 0,0001$ ) et HT1080 ( $p < 0,0001$ ). Par ailleurs, cette internalisation reste plus importante pour la lignée OVCAR3 par rapport à HT1080 ( $p = 0,0025$ ) validant la spécificité du PSAF pour les cellules de cancers ovariens.

Après une PDT-PSAF, nous avons constaté un effet dose dépendant de la concentration du PS, de la dose de lumière ainsi que de l'expression de FRa.

**Perspectives :** Ce projet novateur pourrait permettre de valider l'efficacité de ce traitement innovant sur un modèle de cancer ovarien 2D. Concernant les mécanismes de mort, il est attendu d'avoir majoritairement de l'apoptose à des doses de lumière et de concentrations plus faibles contrairement à la nécrose qui devrait être dominante aux doses de lumière et concentrations plus importantes. La mort des cellules entraînera la libération de néo antigènes tumoraux ainsi que l'exposition de signaux de danger à la membrane à l'origine d'une mort cellulaire dite immunogène permettant la mise en place d'une réponse immunitaire anti-tumorale. Ainsi, la capacité de la PDT à induire une mort cellulaire immunogène à l'origine de la mise en place d'une réponse immunitaire anti-tumorale renforce le potentiel de cette approche thérapeutique dans la prise en charge de la carcinose péritonéale d'origine ovarienne permettant ainsi de prévenir les récurrences et d'améliorer le pronostic des patientes.

**Mots clés :** cancer ovarien épithélial; thérapie photodynamique; photosensibilisateur; carcinose péritonéale





## Session Jeunes chercheurs

Sahra MESSAOUDI

### Poster

#### 36) Intérêt de l'inhibition des pompes calciques SERCA2 dans le traitement des cancers ovariens chimiorésistants.

Sahra MESSAOUDI<sup>1</sup>, Romane FLORENT<sup>2,3</sup>, Louis-Bastien WEISWALD<sup>1,2,3</sup>, Guillaume DESMARTIN<sup>3</sup>, Lucie LECOUFLET<sup>2,3</sup>, Edwige ABEILARD<sup>1,2</sup>, Emilie BROTON<sup>4</sup>, Laurent POULAIN<sup>1,2,3</sup>, Monique N'DIAYE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Caen Normandie, INSERM, ANTICIPE U1086, Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la Prévention et le Traitement des Cancers, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer F. Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>3</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Plateforme ORGAPRED, 14000 Caen, France

<sup>4</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Plateforme ImpedanCELL, 14000 Caen, France

**Introduction :** Le cancer de l'ovaire présente un pronostic sombre qui s'explique notamment par une fréquence importante de patientes présentant une chimiorésistance suite au traitement carboplatine/paclitaxel. Cette chimiorésistance peut s'expliquer par une résistance des cellules à entrer en apoptose. Celle-ci est rigoureusement contrôlée par le ratio pro-apoptotiques (Bim, Puma, Noxa) /anti apoptotiques (Bcl-x<sub>L</sub>, Mcl-1) de la famille Bcl-2. Dans ce cadre, les BH3-mimétiques, molécules développées pour contrecarrer la capacité des anti-apoptotiques à piéger les pro-apoptotiques, ont été développées. Parmi elles, l'ABT-737, ciblant Bcl-x<sub>L</sub> déclenche l'apoptose lorsqu'il est combiné à des inhibiteurs de Mcl-1 ou des inducteurs de pro-apoptotiques. De manière intéressante, la signalisation calcique, fortement dérégulée lors des processus de cancérogenèse et de chimiorésistance dans le but de promouvoir la survie des cellules cancéreuses, est capable de moduler l'expression des membres de la famille Bcl-2. Les pompes calciques SERCA2, impliquées dans l'entrée du calcium dans le RE, sont connues pour jouer un rôle dans le devenir des cellules cancéreuses et, leur inhibition, en activant un stress du RE, participe à l'induction des pro-apoptotiques dans certains modèles. Notre étude a donc pour but de démontrer l'intérêt de l'inhibition des pompes SERCA2 dans la sensibilisation des cellules cancéreuses ovariennes chimiorésistantes à l'ABT-737 afin d'améliorer l'arsenal thérapeutique contre ces cancers.

**Méthodes :** Une lignée cellulaire résistante au platine (OAW42-R) a été traitée avec un si-ARN ciblant SERCA2 ou un inhibiteur pharmacologique, la thapsigargine, en combinaison avec l'ABT-737. Afin de mimer au mieux l'effet de la combinaison en clinique, nous nous sommes tournés vers un modèle cellulaire 3D innovant : les tumoroides dont la réponse aux traitements a été démontrée comme étroitement corrélée à la réponse clinique des patientes. L'émergence de ces modèles a ainsi permis l'accès à une médecine de précision permettant l'administration d'un traitement adapté aux caractéristiques de la tumeur. Des tumoroides ovariens développés dans notre laboratoire ont donc été traités par la combinaison thapsigargine/ABT-737.

**Résultats :** Nous avons montré que l'association des inhibiteurs de SERCA2 à l'ABT-737 induit une mort cellulaire dans la lignée OAW42-R. Cette mort est dépendante de l'augmentation de Noxa, puisqu'elle est fortement contrecarrée par l'inhibition de ce BH3-only. Des études complémentaires sont en cours pour expliquer l'induction de ce pro-apoptotique. Dans ce cadre, nous avons montré que ces combinaisons thérapeutiques induisent une forte activation du stress du RE connue pour provoquer la transcription de Noxa. Néanmoins, l'inhibition des acteurs majeurs de la voie UPR (Unfolded Protein Response) tels que ATF-4 et CHOP n'a pas eu d'effet sur la mort cellulaire induite. Des analyses par cytométrie de flux avec un marquage Annexine V/Iodure de Propidium montrent que la mort cellulaire correspond à de l'apoptose. Cependant, nous avons mis en évidence que cette apoptose semble indépendante des caspases puisque l'inhibiteur pan-caspase z-vad ne la contrecarre pas dans notre modèle. Des analyses de fractionnement cellulaire mettent en lumière que cette apoptose caspase-indépendante s'accompagne d'un relargage de l'AIF (Apoptosis-Inducing Factor) de la mitochondrie. Enfin, de manière tout à fait intéressante, nous avons pu montrer que la combinaison thapsigargine/ABT-737 induit une déstructuration massive ainsi qu'une diminution de la viabilité cellulaire des tumoroides, attestant la possible efficacité de ce traitement chez des patientes.

**Conclusion :** Notre étude a montré qu'inhiber les pompes calciques SERCA2 est une stratégie pertinente pour sensibiliser les cellules cancéreuses ovariennes chimiorésistantes à l'ABT-737. L'apport du modèle 3D a permis d'appuyer les résultats obtenus en culture 2D et d'en améliorer la pertinence. Notre étude est la première à démontrer un intérêt à l'inhibition des pompes calciques SERCA2 dans les cancers de l'ovaire, elle offre donc un nouvel espoir dans la prise en charge des patientes. Il s'avère que la thapsigargine, pro-drogue de la thapsigargine est actuellement utilisé en essai clinique de phase II dans le traitement du cancer de la prostate et consolide l'intérêt thérapeutique de notre étude.

**Mots clés :** cancer de l'ovaire, chimiorésistance, apoptose, famille Bcl-2, signalisation calcique, SERCA, tumoroides.





## Session Jeunes chercheurs

Thomas MEYNARD

### Poster

#### 37) Développement d'un modèle de co-culture 3D d'adénocarcinome pancréatique canalaire au sein d'un système microfluidique pour l'étude des interactions tumeur-stroma et de la réponse aux traitements chimiothérapeutiques.

Thomas MEYNARD<sup>1</sup>, Félix ROYER<sup>1,2</sup>, Orégane BAJEUX<sup>1,3</sup>, Sonia PAGET<sup>1,4</sup>, Robin HOUSSIER<sup>1</sup>, Audrey VINCENT<sup>1,4</sup>, Alejandra MOGROVEJO<sup>3</sup>, Elodie VANDENHAUTE<sup>3</sup>, Nathalie MAUBON<sup>3</sup>, Vincent SENEZ<sup>\*1</sup>, Isabelle VAN SEUNINGEN<sup>\*1</sup>

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

<sup>2</sup> Oslo University, Oslo, Norway

<sup>3</sup> HCS Pharma, Biocentre Fleming, 250 rue Salvador Allende, Bat A, 59120 Loos

<sup>4</sup> ORGALille 3D organoid culture platform, OrgaRES core facility, CANTHER laboratory, F-59000 Lille, France

\* auteurs ayant participé au travail à qualité égale

**Nouveauté :** Cette recherche présente un modèle d'adénocarcinome pancréatique canalaire (PDAC) utilisant une co-culture de fibroblastes humains et de cellules cancéreuses pancréatiques humaines dans une matrice biomimétique viscoélastique composée de collagène 1 et d'acide hyaluronique à rigidité modifiable. La hauteur des canaux du système microfluidique développé peut être modifiée pour imiter la contrainte de la pression intra-tumorale.

**Contexte :** Le PDAC est la 4ème cause de mortalité par cancer et est projeté 2ème en 2030. Ce cancer est de très mauvais pronostic car il est souvent décelé à un stade avancé. Afin de recréer une tumeur pancréatique de type tumeur-sur-puce, les caractéristiques principales du PDAC, et notamment son microenvironnement, doivent être restituées [1]. Cela inclut un stroma dense composé d'une large population de fibroblastes activés surexprimant des protéines de la matrice extracellulaire (ECM) [2]. Cette densité stromale entraîne une augmentation de la rigidité et de la pression intratumorale qui diminuent le transport de masse donc la sensibilité aux traitements [3]. Les modèles statiques 3D actuels ne prévoient pas cette détérioration du transport de masse [4]. Notre but est donc de créer un modèle microfluidique reproduisant les caractéristiques physiques du PDAC : un flux interstitiel, différents niveaux de rigidité inclus dans une matrice de culture biologiquement pertinente et l'application de différents niveaux de compression.

**Résultats :** Le microsystème en PDMS est composé de deux parties : une base collée à un substrat en verre composée de 8 canaux, et une partie supérieure qui ferme le système et comprime le micro-tissu. Le dispositif est clos par des plaques de fermeture usinées en aluminium. Le dispositif comprend une matrice synthétique dont la porosité et la perméabilité permettent une perfusion directe pendant plusieurs jours sans détérioration. Sa composition peut être modifiée pour obtenir différentes rigidités (1; 8; 16 kPa) et ses propriétés mécaniques sont mesurées par test de compression. Notre modèle biologique est composé de tumeurs dérivées de PDAC ou d'une co-culture de lignées cancéreuses pancréatiques humaines et de cellules stellaires pancréatiques humaines activées. Nos conditions de culture permettent l'expression de marqueurs épithéliaux (E-cadhérine) et mésenchymateux (vimentine) spécifiques, de voies de signalisation tumorigènes ( $\beta$ -caténine) et d'acteurs mécanobiologiques (voie hippo YAP/TAZ). Différentes compositions chimiques de la matrice ont été testées pour optimiser l'activation des fibroblastes ( $\alpha$ -SMA).

**En conclusion,** nous avons développé et caractérisé un système microfluidique parallélisé permettant la compression du matériel biologique. En parallèle nous avons mis en place un modèle pertinent de PDAC composé d'une co-culture dans une matrice à rigidité variable et dont la composition est optimisée pour l'activation des fibroblastes.

[1] Beer, *Sci. Rep.* 2017, [2] Nieskoski, *Sci. Rep.* 2017, [3] Jain, *Annu. Rev. Biomed Eng.* 2014, [4] Haque, *Microsystems&Nanoengineering* 2022

**Mots clés :** PDAC ; Co-culture ; Chimiosensibilité ; Microfluidique ; Mécanobiologie

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Noémie MOREAU

### Poster

#### 38) Optimisation par machine learning des contrôles qualité des plans de radiothérapie au centre François Baclesse : Mise en application en routine clinique.

Noémie MOREAU<sup>1</sup>, Laurine BONNOR<sup>1</sup>, Cyril JAUDET<sup>1</sup>, Laetitia LECHIPPEY<sup>1</sup>, Nadia FALZONE<sup>2</sup>, Alain BATALLA<sup>1</sup>, Cindy BERTAUT<sup>3</sup>, Aurélien CORROYER-DULMONT<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> CLCC François Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> GenesisCare, Sydney, New South Wales, Australie

<sup>3</sup> Hôpital de Cherbourg, 50100 Cherbourg, France

<sup>4</sup> Normandie Univ, UNICAEN, CNRS, ISTCT Unit, GIP CYCERON, Caen, France

**Contexte :** Les techniques d'arcthérapie permettent une meilleure conformation du dépôt de dose sur la tumeur ainsi qu'une administration plus rapide du traitement que les techniques conventionnelles. En conséquence, le nombre de traitements d'arcthérapie augmente. Cependant, les plans de radiothérapie (plans RT) sont plus complexes et nécessitent une assurance qualité (AQ) pré-traitement spécifique au patient. À son tour, l'AQ pré-traitement est une activité chronophage. La problématique est la suivante : La dose planifiée sur le système de planification de traitement (TPS) correspond-elle à la dose délivrée au patient sur l'accélérateur ?

**Objectif :** L'objectif de cette étude était de développer un modèle prédictif des résultats d'AQ basé sur les indices de complexité du plan RT afin de réduire la charge de travail d'AQ et de rendre la machine plus disponible pour le traitement des patients.

**Méthodes :** Un algorithme python permettant d'extraire six indices de complexité et les valeurs de gamma moyen et d'indice gamma (3%, 3mm) a été évalué à partir d'une base de données composées de 1632 plans RT (toutes localisations tumorales confondues). Des modèles de régression et de classification de Machine Learning (ML) (divisés en deux classes : conformité du plan ou non) ont été utilisés et entraînés à l'aide de 1301 plans RT et validés sur 301 plans RT. Pour les localisations plus complexes (sein, pelvis et ORL), des modèles d'apprentissage hybride profond (DHL) (combinaison de modèles ML avec des modèles de Deep Learning) ont été entraînés pour obtenir de meilleures performances.

**Résultats :** Pour toutes les localisations tumorales, les résultats de prédiction d'AQ, pour deux modèles de ML différents ont produit des scores d'entraînement proches de 100 % et des scores de prédiction de 88 % et 77 % respectivement. Les modèles ont été optimisés pour obtenir un meilleur compromis sensibilité/spécificité. Le premier modèle prévoyait 70 % de vrais positifs, une sensibilité de 76,8 % et une spécificité de 75,8 %. Le second a prédit 68 % de vrais positifs, avec une sensibilité de 72,5 % et une spécificité de 72,4 %. Une méthode innovante de classification (DHL) a atteint une sensibilité de 99,33 % et une spécificité de 98,50 % (pour toutes les localisations tumorales). Les modèles DHL appliqués à des localisations complexes (localisation du sein par exemple) donnent une sensibilité de 97,72% et une spécificité de 100%.

**Conclusion :** Les modèles ML et DHL ont prédit les résultats de l'AQ avec un haut degré de précision. Notre plateforme prédictive offre des gains de temps substantiels en termes d'occupation des accélérateurs et de temps de travail sans compromettre la qualité du traitement.

**Mots clés :** Machine Learning, Deep Hybrid Learning, Radiothérapie, VMAT, Contrôles qualité, Routine clinique

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Ismail MOUSSAOUI

### Poster

#### 39) Proposition d'une nouvelle Stratégie de Thérapie Photodynamique Peropératoire pour le Traitement des Carcinomes Hépatocellulaires.

Ismail MOUSSAOUI <sup>1\*</sup>, Florian PECQUENARD <sup>1,2\*</sup>, Clément BOUCHEZ <sup>1</sup>, Nadira DELHEM <sup>1</sup> and Emmanuel BOLES-LAWSKI <sup>1,2\*</sup>.

\* Equally contributed authors

<sup>1</sup> INSERM U1189 OncoThAI – Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, Université de Lille, CHU de Lille, ONCOLILLE, France

<sup>2</sup> Service de chirurgie Digestive, Hôpital Huriez, CHRU de Lille, Lille, France

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est l'une des principales causes de mortalité associée au cancer dans le monde. Les thérapies à but curatif, dont fait partie la résection chirurgicale, sont en nombre limité. Par ailleurs, il existe un risque élevé de récidive après résection et aucun traitement n'a fait ses preuves pour réduire ce risque. Il y a donc un besoin urgent de développer de nouvelles options de traitements. Dans ce contexte, la thérapie photodynamique (PDT) pourrait être une option alternative. La PDT repose sur l'administration d'une molécule sensible à la lumière, appelée photosensibilisateur (PS), qui s'accumule dans un tissu cible. Ce tissu est ensuite illuminé avec une lumière de longueur d'onde et de fluence appropriées au photosensibilisateur employé induisant l'excitation de ce dernier. La molécule photo-activée réagit avec l'oxygène intracellulaire induisant une cytotoxicité sélective des cellules ciblées par la génération d'espèces réactives de l'oxygène. La PDT induit ainsi la mort des cellules tumorales avec libération d'antigènes tumoraux permettant la mise en place d'une réponse immunitaire antitumorale.

Dans ce contexte, nous proposons d'évaluer l'efficacité de la PDT dans le traitement du CHC afin d'envisager une utilisation de la PDT en peropératoire immédiatement adjuvante à la résection chirurgicale pour traiter le lit d'hépatectomie. Dans un premier temps, une étude *in vitro* de l'efficacité de la PDT sur des lignées humaines de CHC sera réalisée et dans un deuxième temps, une évaluation de l'impact de la PDT sera réalisée *ex vivo* sur des cellules hépatiques et des cellules immunitaires humaines en culture primaire. En parallèle, l'impact de l'illumination sur le parenchyme hépatique sera également évalué sur un modèle *in vivo* de mini-porc.

L'ensemble de nos résultats devraient permettre de proposer une nouvelle stratégie thérapeutique innovante dans les traitements des CHC.

**Mots clés : Thérapie Photodynamique, Carcinome hépatocellulaire, Photosensibilisateur, Hépatocytes, PBMC**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Amina NAIT ELDJOURI

### Poster

#### 40) Impact de la chimiothérapie sur la métastase cérébrale du cancer du sein triple négatif.

Amina NAIT ELDJOURI<sup>1</sup>, Marie WINTER<sup>1</sup>, Julien CICERO<sup>1,2</sup>, Caroline MYSIOREK<sup>2</sup>, Robert-Alain TOILLON<sup>1</sup>, Xuefen LE BOURHIS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ.Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Team « Cell Plasticity and Cancer », UMR9020, U1277-CANTHER

<sup>2</sup> LBHE « Blood brain barrier research center » U.R.2465 University of Artois

Le cancer du sein triple négatif (TNBC) est un sous-type agressif de cancer du sein, contre lequel la chimiothérapie reste le traitement standard. Cependant, entre 3 et 5 ans après la chimiothérapie, plus de 50 % des patientes atteintes de TNBC rechutent, principalement avec la formation de métastases. Dans lesquelles, les métastases cérébrales présentent 40 % des cas, et sont associées à un pronostic sombre. Étonnamment, des études récentes ont montré que la chimiothérapie, en plus de ses effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses, peut favoriser les métastases. L'amélioration thérapeutique nécessite donc une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la formation des métastases. Mon projet de thèse a pour but de caractériser l'impact de la chimiothérapie dans le processus métastatique cérébral des cellules TNBC, en mettant l'accent sur la caractérisation du sécrétome chimio-induit. Pour cela les cellules cancéreuses subissent soit un traitement combiné et séquentiel par chimiothérapie (Epirubicine, cyclophosphamide et paclitaxel(ECP)) de long terme (18 semaines) mimant celui administré en clinique et permettant d'étudier les mécanismes de persistance en résultant, soit un traitement (ECP) de court terme (48 h) permettant d'évaluer les modifications précoces du protéome des vésicules extracellulaires après chimiothérapie. En effet, nous avons observé que les cellules persistantes sont plus prolifératives que ce soit en monocouche, en suspension ou en culture 3D (Matrigel). De plus, en utilisant un modèle *in vitro* de la BHE, nous avons observé que la transmigration des cellules persistantes à travers la BHE est augmentée. De même, dans un modèle *ex vivo* de culture en tranche de cerveaux (300 µm) de souris immunocompétentes, les cellules persistantes envahissent plus le parenchyme cérébral que les cellules contrôles. Enfin, dans un modèle de xénogreffes chez les souris SCID, nous avons observé que les cellules persistantes envahissent plus d'organes distants dont le cerveau. L'ensemble de ces résultats montrent l'acquisition par les cellules persistantes d'un phénotype agressif avec une capacité métastatique cérébrale accrue. Afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires favorisant le processus métastatique, nous avons réalisé une étude protéomique (LC-MS/MS) du sécrétome des cellules persistantes vs cellules naïves de tout traitement. En s'appuyant sur des données bibliographiques et sur l'analyse des bases de données publiques, nous avons choisi la validation de COL1A1 dont l'expression était augmentée de 13 fois. L'augmentation importante de COL1A1 dans le sécrétome des cellules persistantes au traitement de long terme suggère qu'il pourrait jouer un rôle dans le processus métastatique. L'ARN non codant lncRNA H19, a été décrit comme étant impliqué dans la progression du cancer du sein. Nos résultats préliminaires montrent que les cellules persistantes au traitement de long terme expriment plus de H19 (6-10 fois). De façon intéressante, nous avons observé que les cellules de cancer du sein surexprimant H19 présentent aussi un niveau plus élevé de COL1A1. De plus, il a été décrit que H19 interagissait avec miR-29b dans un modèle de fibrose sous-muqueuse buccale précancéreuse. Nos résultats préliminaires ainsi que les données bibliographiques suggèrent que la régulation de COL1A1 implique un effet « éponge » de H19 sur le miR-29b dans les cellules de cancer du sein triple négatif persistantes aux traitements de chimiothérapie. Cette hypothèse de régulation sera donc vérifiée.

En parallèle, nous avons réalisé une analyse protéomique *a priori* des VE chimio-induites après traitement ECP de court terme (48h) comparées au VE issues de cellules non traitées. Parmi les protéines « up-régulées », les cytokines CXCL11 et CXCL10 sont augmentées de 6 et de 3 fois, respectivement. Ces deux cytokines sont corrélées chez les patientes de cancer de sein par un facteur de Pearson de 0,8 (UALCAN). La validation fonctionnelle *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo* des 3 cibles (COL1A1, CXCL10, CXCL11) sera réalisée en utilisant des anticorps neutralisants afin de vérifier leur implication dans les phénotypes agressifs observés.

Cette étude nous permettra d'identifier et de caractériser les molécules contenues dans le sécrétome chimio-induit, ainsi que de déterminer leur implication potentielle dans les métastases cérébrales du TNBC après traitement par chimiothérapie.

**Mots clés : TNBC, chimiothérapie, métastase cérébrale, sécrétome, vésicules extracellulaires**





## Session Jeunes chercheurs

Celeste NICOLA

### Poster

#### 41) « Niches » cérébrales initiées par différents cancers immunogènes et impact majeur des inhibiteurs de checkpoints sur les fonctions cognitives et l'anxiété.

Celeste NICOLA <sup>1,2</sup>, Martine DUBOIS <sup>1,2</sup>, Martin PEDARD <sup>1</sup>, Pauline NEVEU <sup>1,2</sup>, Gaetan RIOU <sup>3</sup>, Kleuforo-Paul DEMBELE <sup>1,2</sup>, Laurence DESRUES <sup>1,2</sup>, Sahil ADRIOUCH <sup>3</sup>, Florence JOLY <sup>2,4,5,6</sup>, Pascal HILBER <sup>1</sup>, Olivier WURTZ <sup>1</sup>, Hélène CASTEL <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, U1245 INSERM, Cancer and Brain Genomics; Institute of research and biomedical innovation (IRIB) 76000 Rouen, France;

<sup>2</sup> Cancer and Cognition platform

<sup>3</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, U1234 INSERM, Pan'THER, Institute for Biomedical Research, Rouen University Hospital, Rouen, France

<sup>4</sup> Clinical Research Department, Centre François Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>5</sup> Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, ANTICIPE, 14000 Caen, France

<sup>6</sup> University Hospital of Caen, 14000 Caen, France

**Contexte :** Les immunothérapies (IT) de types inhibiteurs de checkpoint PD-1/PD-L1 sont des approches prometteuses dans le traitement du cancer mais accompagnées de nombreux effets secondaires. Un protocole clinique permettant les évaluations objectives des fonctions cognitives est actuellement en cours dans le cadre des programmes ImmunoCog et CancerCog (Lange et al., BMC cancer, 2022). Dans ce travail nous avons étudié l'impact du cancer en association aux anti-PD-1/PD-L1 sur les fonctions cognitives, les infiltrats immunitaires, la neuroinflammation cérébrale ainsi que sur une possible signature systémique de la neurotoxicité dans des modèles précliniques.

**Méthodes :** 1. Des souris C57Bl/6j naïves ont reçu pendant 4 semaines (2 inj/sem, i.p., 100 mg/kg, n=15) un anti-PD1 et/ou anti-PD-L1 murin. 2. Des souris C57Bl/6j (n=10) ont été xénotransplantées par des cellules tumorales de cancer du côlon immunogène (MC38, 50x10<sup>4</sup> φ /100 μL PBS, s.c.) ou de mélanome moins immunogènes (B16F10/B16F10-Ova, 50x10<sup>4</sup> φ /150 μL matrigel, s.c.). 3. Des souris MC38 ou B16 ont reçu un anti-PD1, anti-PD-L1 ou IgG contrôle (2inj/sem, n=10, 5 mg/kg, i.p.). En fonction de la croissance tumorale (B16/ B16-Ova: J4-8, MC38: J13-16, lysats: J16-19), la mémoire, l'activité spontanée, l'anxiété et la résignation ont été étudiés à l'aide d'une batterie de tests comportementaux. L'intégrité de la barrière hématoencéphalique (BHE) a été évaluée in vivo à l'aide d'une injection périphérique d'un traceur (FITC-dextran, 3kDa, 100μl i.p.). A la fin de chaque série expérimentale, le cerveau, la tumeur, le sang ont été collectés et analysés.

**Résultats :** Aucun déficit comportemental n'est détecté chez les souris naïves traitées par anti-PD1 et/ou anti-PD-L1. En revanche, les fonctions cognitives sont impactées chez toutes les souris cancéreuses (NORT, B16 \*p<0,05, B16-Ova et MC38 \*\*\*p<0,001) tandis que la réactivité émotionnelle et l'activité spontanée sont altérées chez les souris porteuses de cancers immunogènes (EPM: B16-OVA \*\*p<0,01; MC38 \*p<0,05. TST: B16-OVA \*\*\*p<0,001; MC38 \*\*p<0,01; OFT: MC38 \*p<0,05). Nos analyses sur coupes de tumeurs confirment le profil plus immunogène des tumeurs MC38 (expression : MECA 79+, \*p<0,05 ; CD8+, \*\*\*p<0,001 ; PD-L1+, \*\*p<0,01) comparativement aux B16. Ce profil tumoral s'accompagne de niveaux d'IL1β chez les souris B16 (\*\*p<0,01) et de MCP1 (\*\*p<0,001), IL-17 (\*p<0,05) et IL-6 (\*\*\*p<0,001) chez les souris MC38 augmentés dans le plasma. La présence des deux cancers entraîne une perméabilité de la BHE (B16 \*p<0,05 ; MC38 \*\*p<0,01) ainsi qu'une réactivité vasculaire (VCAM1+) et méningée (IL-17+), probables relais des déficits cognitifs. Chez les souris MC38, une réactivité microgliale (Iba1+, \*\*p<0,01) au niveau hippocampal est détectée, pouvant expliquer les pertes d'activité et la résignation. Lorsque les souris B16 ou MC38 sont traitées par les ITs, les troubles cognitifs (\*\*p<0,01) sont exacerbés par PD-1 et PD-L1, alors qu'un effet délétère sur l'anxiété (\*p<0,05) apparaît avec PD-L1. Seule une augmentation de IL-1β est mesurée dans le plasma de souris B16-PD-L1 (\*p<0,05) vs B16-IgG, et de IL-1α et MCP1 (\*\*p<0,01) dans le plasma de souris MC38-PD-1 et MC38-PD-L1 vs MC38-IgG. Chez les souris MC38-PD-1, nos analyses sur les PBMCs révèlent une augmentation des lymphocytes T (CD45+CD3+), à la fois CD4+ que CD8+, (\*p<0,05). La perméabilité de la BHE est exacerbée par le anti-PD-L1 chez les souris B16 (\*\*\*p<0,001) et MC38 (\*p<0,05), et une infiltration de cellules T CD3+ apparaît au niveau des plexus choroïdes et les méninges des souris MC38-PD1 (\*\*p<0,01) et B16-PD-L1 (\*\*p<0,01), sans exacerbation de la neuroinflammation (Iba1+).

**Conclusion :** Nous avons montré que certains cancers préparent une inflammation vasculaire et des niches neuroinflammatoires nécessaires à la mise en place des mécanismes de neurotoxicités liées aux ITs. Ainsi, la mise en évidence de biomarqueurs plasmatiques et la compréhension des mécanismes permettra de proposer des stratégies de diagnostic précoce et de prévention des déficits émotionnels et cognitifs induits par les ITs.

Soutenu par : Région Normandie, Fonds Européens du Développement Régional (FEDER) RIN CancerCOG, le Cancéropôle Nord-Ouest (Structurant ImmunoCog), la Ligue Nationale contre le Cancer, La ligue contre le Cancer Normandie, l'Université de Rouen Normandie, Inserm.

**Mots clés : immunothérapies, neuroinflammation, cancer, immunogénicité, fonctions cognitives**





## Session Jeunes chercheurs

Geoffrey PAWLAK

### Poster

#### 42) lung.cregmap : a co-regulatory influence map of lung cancer heterogeneity.

Geoffrey PAWLAK, David TULASNE, Mohamed ELATI

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

#### Background :

Lung cancer is the leading cause of cancer-related death worldwide and the second most diagnosed cancer with a 5-year survival rate of 20%. Targeted therapies' efficacy is notably dependent on patients' selection likely to respond to the therapy. However, based on the presence of simple genomic alterations, patients' selection is imperfect, which leads either to the selection of non-responders or to a failure to select patients likely to respond. Lung cancer studies performed in a variety of laboratories and by a number of large-scale projects have given an unparalleled amount of information on tumors and in vitro models. Consolidating these data into an easily accessible and intuitive system-level format is crucial to accelerate systems oncology model development.

#### Methods :

We combined network biology with machine learning and visualization tools to execute a cycle of systems oncology model development: inference of the co-regulatory networks (from transformed cells in vitro), interrogation of the tumors in vivo using the inferred networks, and intervention with the network (feeding back to the in vitro tumor models).

#### Results :

Here we introduce lung.cregMap a powerful web-based tool to help researchers to rapidly access a co-regulatory influence network view of lung cancer heterogeneity and plasticity. lung.cregMap allow user to: explore the similarities and differences between lung cancer subtypes and identify their possible core regulators; identify rare subtypes; align tumor and cell line transcriptional profiles; and define new targets related to the different states and plasticity of the tumours (undifferentiated vs differentiated, therapy sensitive vs resistant cells, etc.). lung.cregMap has a very intuitive interface, and no bioinformatics skills are required. For all the networks and plots that are generated, the user can run different annotation (classification, genomic alteration and clinical), add new transcriptome data, and the raw data to reproduce the plots can be downloaded for future analysis or publications.

#### Conclusion :

The identification of regulatory networks and the study of their plasticity should allow to identify efficient therapeutic strategies and will pave the way for precision oncology.

**Mots clés : System biology, lung cancer, machine learning, biological network**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Martin PEDARD

### Poster

#### 43) Stratégie multidisciplinaire pour le traitement du glioblastome : hydrogel thermosensible, piège tumoral et remodelage du microenvironnement cérébral.

Martin PEDARD<sup>1</sup>, Morgane MOREL<sup>2</sup>, Karolina SWIDERSKA<sup>3</sup>, Virginie DULONG<sup>2</sup>, Pierre-Yves RENARD<sup>3</sup>, Cyrille SABOT<sup>3</sup>, Luc PICTON<sup>2</sup>, Géraldine GOUHIER<sup>3</sup>, Pierrick GANDOLFO<sup>1</sup>, Hélène CASTEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNIROUEN, U1245 INSERM, Cancer and Brain Genomics; Institute of research and biomedical innovation (IRIB) 76000 Rouen, France

<sup>2</sup> Laboratoire Polymères, Biopolymères et Surfaces, UMR CNRS 6270, Université de Rouen Normandie, Mont Saint Aignan, France, 76821

<sup>3</sup> Normandie Université, COBRA UMR 6014, FR 3038, INSA Rouen, CNRS, IRCOF 1 Rue Tesnière 76821 Mont-Saint-Aignan France

**Introduction :** Le glioblastome (GB) est la tumeur cérébrale la plus agressive chez l'adulte. Le caractère très hétérogène du GB associé aux signatures moléculaires et expressions géniques, l'invasivité mais également le microenvironnement hypoxique et immunosuppresseur, contribuent à la récurrence quasi-systématique après chirurgie-radio/chimiothérapie et expliquent les nombreux échecs thérapeutiques. Notre projet propose d'utiliser la cavité de résection après chirurgie du GB par un hydrogel fonctionnel gélifiant permettant de contrôler la croissance tumorale, créer un environnement anti-tumoral et favoriser l'efficacité du protocole de Stupp. Nos objectifs réunis dans le consortium Neuroncochimie Normand sont i) d'attirer localement les cellules de GB et les cellules du microenvironnement grâce à la présence d'un neuropeptide chimio-cytotaxique appelé Urotensine II (UII), ii) de traiter les cellules tumorales par une chimiothérapie à relargage contrôlé connue comme le TMZ ou des chimiothérapies plus efficaces comme l'irinotecan et iii) contrôler la plasticité du microenvironnement par protéomique et métabolomique spatiales dans des modèles *in vitro* et pré-cliniques.

**Méthodes :** Des mesures de libération d'UII par notre hydrogel thermosensible (15 g/l) ont été réalisées (H0, H1, H2, H4, H12, H24, H48) en présence d'UII-FITC ( $10^{-6}$  à  $10^{-10}$  M). Les propriétés invasives de lignées de GB humaine U87-GFP et murine GL261-GFP au sein de l'hydrogel ont été étudiées i) dans un test d'anneaux de clonage contenant l'hydrogel en absence ou en présence d'UII ( $10^{-8}$  M), au contact des cellules U87-GFP ou GL261-GFP ou ii) par une stratégie *ex vivo* sur tranches organotypiques de cerveau souris immunodéficientes (Nude) et immunocompétentes (C57Bl6/j) consistant en l'injection intrastriale des U87-GFP et GL261-GFP respectivement, une résection *ex vivo* et le remplissage par l'hydrogel (+/- UII  $10^{-8}$  M) permettant une observation de l'invasion par microscopie pendant 7 jours. Pour visualiser l'invasion des cellules tumorales dans l'hydrogel, une sonde pro-fluorescente basée sur le FRET clivable par l'activateur du plasminogène de type urokinase (uPA-Q-Cy3) a été produite. L'hydrogel additionné de la sonde (2 et 20  $\mu$ M) a été mis au contact avec les cellules de GB et la fluorescence Cy3 a été mesurée dans le surnageant jusqu'à 24h. Pour tester l'efficacité anti-tumorale de ce gel chemo-attractant, une xélogreffe orthotopique par injection intrastriale de cellules GL261-GFP a été suivie d'une excrèse tumorale *in vivo* chez la souris C57B/16, la cavité de résection recevant 10  $\mu$ L de notre hydrogel (+/- UII  $10^{-8}$  M). L'étude de la survie a été réalisée (n=7/condition), les analyses immunohistochimiques sont en cours.

**Résultats :** Une libération rapide d'UII-FITC est détectée entre H1 et H3 dans le milieu de culture, avec stabilisation sur 24h indépendamment de la concentration. L'UII entraîne une augmentation du nombre (U87-GFP \*\*  $p < 0,01$ , GL261-GFP \*\*\*  $p < 0,001$ ) et de la distance de migration (U87-GFP \*\*\*  $p < 0,001$ , GL261-GFP \*\*\*  $p < 0,001$ ) des cellules de gliome dans l'hydrogel. Cette invasion est corroborée par l'augmentation du signal Cy3 dans le surnageant de culture après 24h lorsque l'uPA-Q-Cy3 est testée à 2  $\mu$ M (U87-GFP \*  $p < 0,05$ , GL261-GFP \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou 20  $\mu$ M (U87-GFP \*\*\*  $p < 0,001$ , GL261-GFP \*\*\*  $p < 0,001$ ). Lorsque l'hydrogel est présent dans la cavité de résection de GB en tranche organotypique, l'UII stimule la densité de cellules GFP+ (\*  $p < 0,05$ ) mais aussi GFP- (\*  $p < 0,05$ ), suggérant une recolonisation par des cellules tumorales et non tumorales. Dans notre modèle *in vivo* de résection, la survie des souris «Hydrogel» est significativement améliorée par rapport aux souris «GB», mais surtout la survie des souris «Hydrogel+UII » (n=8, \* $p < 0,05$ ) est augmentée par rapport aux souris « Hydrogel » avec notamment 70% des souris encore en vie après 60 jours.

**Conclusion :** Cette stratégie prometteuse, permettra de proposer de nouveaux axes de traitement des cancers du cerveau avec une évaluation de la plasticité cérébrale en pré-clinique, d'administrer des traitements de chimiothérapie et/ou ciblés localement, en maîtrisant la libération de l'agent actif et tout en augmentant sa durée d'action pour optimiser son efficacité.

Soutenu par : Région Normandie et Fonds Européens du Développement Régional (FEDER) RIN NeurOncochimie, La Ligue contre le cancer Normandie, l'Université de Rouen Normandie, l'Inserm.

**Mots clés :** Glioblastome, thérapie locale, piège à tumeur, hydrogel thérapeutique, microenvironnement cérébral





## Session Jeunes chercheurs

Jocelyn PEZERIL

### Poster

#### 44) Evaluation préclinique du potentiel thérapeutique de molécules PROTAC dirigées contre Mcl-1 et/ou Bcl-xL pour la prise en charge personnalisée des cancers ovariens.

Jocelyn PEZERIL<sup>1,2</sup>, Marie CORNU<sup>3</sup>, Hippolyte PAYSANT<sup>1,2</sup>, Nicolas GUEDENEY<sup>3</sup>, Edwige ABEILARD<sup>1,2</sup>, Marilyne GUILLAMIN<sup>4</sup>, Jordane DIVOUX<sup>1,2,5</sup>, Charline KIEFFER<sup>3</sup>, Louis-Bastien WEISWALD<sup>1,2,5</sup>, Anne-Sophie VOISIN-CHIRET<sup>3</sup>, Laurent POULAIN<sup>1,2,4,5</sup>

<sup>1</sup> Université de Caen Normandie, Inserm U1086 ANTICIPE, Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la Prévention et le Traitement des Cancers, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, Caen, France

<sup>2</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, Caen, France

<sup>3</sup> Université de Caen Normandie, UR 4258 CERMN, Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie, Caen, France

<sup>4</sup> Université de Caen Normandie, Unité de services PLATON, PLAtforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en ONcologie, Plateforme Cytométrie en flux, Caen, France

<sup>5</sup> Université de Caen Normandie, Unité de services PLATON, PLAtforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en Oncologie, Plateforme ORGAPRED, Caen, France

Les cancers ovariens représentent la première cause de mortalité par cancers gynécologiques, du fait d'un diagnostic souvent tardif combiné à un fort taux de récurrence, lui-même lié à l'acquisition de résistances à la chimiothérapie. Le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques constitue donc un enjeu majeur pour l'amélioration de la prise en charge de ces cancers. Les protéines anti-apoptotiques Mcl-1 et Bcl-xL, dont l'expression est fortement corrélée à la résistance aux traitements, constituent des cibles de choix, tel que démontré par notre équipe et par la littérature au cours de la dernière décennie. Le développement clinique d'inhibiteurs pharmacologiques de ces protéines est actuellement freiné par leurs effets secondaires : thrombopénie liée à l'inhibition de Bcl-xL, toxicité cardiaque pour celle de Mcl-1. La technologie PROTAC (PROteolysis TARgeting Chimera), qui induit une dégradation ciblée des protéines par le système ubiquitine-protéasome, pourrait être mise à profit pour dégrader ces deux protéines d'intérêt. Cette stratégie consiste à associer un ligand spécifique de la protéine cible à un ligand spécifique d'une ubiquitine ligase E3, absente des tissus à éviter mais présente dans la tumeur ciblée. La littérature montre par exemple que l'utilisation de molécules PROTAC permet la dégradation de Bcl-xL tout en évitant la toxicité plaquettaire associée.

Nous avons préalablement démontré que l'une des molécules originales que nous avons développées, le Pyridoclax, présentait une activité inhibitrice de Mcl-1. Sur la base de ces travaux, nous avons développé et évalué l'activité de molécules PROTAC basées sur le couplage du Pyridoclax ou de ses dérivés à des ligands ciblant les ubiquitine ligases E3 VHL et CRBN, peu ou pas exprimées dans le cœur et les plaquettes mais exprimées dans les cancers ovariens. Leur effet sur l'expression des protéines Bcl-xL et Mcl-1 a été évalué par western blot et cytométrie en flux, montrant que certaines d'entre elles sont actives (jusqu'à 90% d'extinction) à des concentrations de l'ordre du nanomolaire. Leur effet sur la viabilité des cellules tumorales ovariennes, seules ou associées à divers agents anticancéreux, est en cours d'évaluation et sera présenté.

**Mots clés : Cancers de l'ovaire, apoptose, famille Bcl-2, molécules PROTAC, dégradation protéique**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Thao- Nguyen PHAM

### Poster

#### 45) Acute effects of brain irradiation with X-ray or proton beam on circulating immune cells in rodents: A data and physiology-based modeling approach.

Thao- Nguyen PHAM<sup>1,2</sup>, Julie COUPEY<sup>1</sup>, Jérôme TOUTAIN<sup>1</sup>, Serge CANDEIAS<sup>3</sup>, Gaël SIMONI<sup>4</sup>, Marc ROUSSEAU<sup>4</sup>, Omar TOUZANI<sup>1</sup>, Juliette THARIAT<sup>2</sup>, Samuel VALABLE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNICAEN, CNRS, ISTCT, GIP Cyceron, Caen, France

<sup>2</sup> Laboratoire de physique corpusculaire UMR6534 IN2P3/ENSICAEN, France - Normandie Université, France

<sup>3</sup> Univ. Grenoble Alpes, CEA, CNRS, IRIG-LCBM-UMR5249, 38054, Grenoble, France

<sup>4</sup> CNRS, IPHC, UMR 7178, Strasbourg University, 67200, Strasbourg, France

**Introduction:** Leucocytes of either lymphoid/myeloid lineages can influence tumor growth and response to radiotherapy, one of the standard therapies in brain tumors. Radiotherapy has both immune-stimulatory and immune-suppressive effects. Knowledge of the mechanisms of radiation on the immune system can be exploited through modeling to design combinations with novel radiation modalities better adapted to brain radiotherapy.

**Materials and methods:** Based on data from a preclinical study of leucocyte subpopulations variation following X-ray/proton brain irradiation in mice, statistical relationship between radiation parameters (particle, radiation volume, dose rate) and leucocyte subpopulations were investigated. Physiology-based parameters were estimated using radiation parameters and physiology (blood volume, blood flow), based on the hypothesis that dose to the blood induces leucocyte variations. Then, a modeling approach was applied to search for relationships between the physiology-based parameters and leucocyte subpopulations levels. It was investigated whether the physiology-based parameters could substitute for the radiation parameters in explaining leucocyte variations following irradiation. Interplay between leucocyte subpopulations after brain irradiation was investigated by (1) correlation clustering analysis: grouping the subpopulations into cluster based on their correlation with each other, described by Pearson correlation coefficient; and (2) causal structure discovery: a data-driven network modeling approach which allowed determining the cause-consequence relationship based on minimizing the overall Bayesian information criterion.

**Results:** X-ray brain irradiation induced a decrease in lymphocytes and a small increase/no change in myeloid populations. For both lineages, almost no effect occurred after proton irradiation except a small increase for neutrophils. Among radiation parameters, particle (photon or proton) had the most impact on lymphopenia in all subpopulations. All physiology-based parameters (total blood flow in the irradiated area, mean transit dose, dose to the blood, number of lymph nodes in irradiated area) were significant predictors of lymphocyte subpopulation reduction during irradiation. On backward stepwise multivariate analysis, predictors only included total blood flow in the irradiated area, mean transit dose and dose to the blood. The predicted model achieved using physiology-based parameters have a similar Akaike information criterion with the model achieved using radiation parameters. Correlation analysis revealed the interplay between leucocyte subpopulations: (1) between innate immune cells (neutrophils, monocytes, NK-cells), suggesting an activation of innate immune response; and (2) between lymphoid subpopulations (T-CD4+, T-CD8+, B-cells), related to the co-reduction following irradiation. Causal structure discovery suggests that irradiation to the brain causes a reduction of circulating lymphocyte subpopulations and an increase of circulating neutrophils. The drop of T CD8+ cells induced the drop of T CD4+ cells, B-cells and NK-cells. The raise of neutrophils induced an increase of monocytes, and of NK-cells.

**Conclusion:** Joint use of radiation parameters into physiology-based parameters in a structured network modeling approach provides new insights on radiation effects on the immune system, including differential response of lymphoid cells, response of myeloid cells and interactions between lymphoid and myeloid lineages. Tuning the physiology(blood)-based parameters allowed us explaining the conservative effect of proton irradiation compared to X-ray by the reduction of the mean dose delivered to leucocytes. Although there are still multiple steps before reaching a predictive model of radiation-induced immune cells variations following brain irradiation in patients, causal network discovery provides a core model structure which could be applied to other situations in both rodents and human when more data is available.

**Mots clés : radiotherapy, modeling, lymphopenia, immune system**





## Session Jeunes chercheurs

Lucie PREVOST

### Poster

#### 46) La promiscuité des récepteurs AT1 de l'angiotensine II et UT de l'urotensine II modifie leurs propriétés pro-tumorigènes.

Lucie PREVOST<sup>1,2</sup>, Laurence DESRUES<sup>1,2</sup>, Vadim LE JONCOUR<sup>3</sup>, Fabrice MORIN<sup>1,2</sup>, Hélène CASTEL<sup>1,2</sup>, Pierrick GANDOLFO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Université de Rouen Normandie, INSERM U1245, Laboratoire de Génomique du cancer et du cerveau (CBG), équipe "Génétique, biologie et plasticité des tumeurs cérébrales" (NeuroGlio), 76000 Rouen, France

<sup>2</sup> IRIB, Institute for Research and Innovation in Biomedicine

<sup>3</sup> Université d'Helsinki, Faculté de Médecine, Helsinki, Finlande

Les glioblastomes (GB) sont les tumeurs cérébrales les plus agressives, avec une récurrence post-traitement quasi-systématique et une médiane de survie de 15 mois seulement. Bien qu'ils se caractérisent par la présence de zones hypoxiques et de réseaux vasculaires denses et tortueux, un traitement par immunothérapie dirigée contre le VEGF (bêvacizumab ou Avastin®) n'apporte pas de bénéfice sur la survie globale des patients. D'autres pistes thérapeutiques sont donc recherchées, parmi lesquelles figurent les systèmes peptidergiques aux propriétés hémodynamiques et chémo-attractantes et dont les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) sollicitent les voies de signalisation impliquées dans les processus clés de la tumorigénèse. Il s'agit en particulier des couples de peptides vasoactifs urotensine II (Ull) et l'angiotensine II (AngII), et de leurs récepteurs UT et AT1, respectivement. Des études rétrospectives ont en effet révélé que des patients, traités avec des inhibiteurs du système angiotensinergique et avec le bêvacizumab, voient leur survie augmenter, probablement en raison d'une normalisation vasculaire et d'une meilleure distribution des traitements. Notre équipe NeuroGlio a quant à elle mis en évidence la surexpression d'Ull et d'UT dans des biopsies de GB, en particulier dans les zones hypoxiques et vasculaires, avec une corrélation positive entre le grade des gliomes et l'expression du couple Ull/UT. *In vitro*, l'Ull exerce de puissants effets chémo-attractants sur des cellules gliomales et sur des cellules endothéliales d'origine cérébrale. Enfin, l'Ull favorise *in vivo* la croissance de xénogreffes de cellules U87 (lignée humaine de GB) et une étude pilote a révélé qu'une co-administration au cœur de ces xénogreffes de losartan (antagoniste d'AT1) et d'urantide (ligand biaisé de l'UT) freine de façon synergique la croissance tumorale et améliore la survie des animaux.

Sur la base de ces données, nous recherchons l'existence d'interactions fonctionnelles entre les récepteurs AT1 et UT qui pourraient être mises à profit dans la mise au point d'une stratégie thérapeutique combinatoire dans le traitement des GB.

A l'aide d'un modèle de cellules HEK293 exprimant AT1 et/ou UT, nous nous sommes dans un premier temps intéressés à trois mécanismes clés de la tumorigénèse : la croissance, l'adhésion et la migration cellulaire. Globalement, nos résultats montrent que la promiscuité des récepteurs AT1 et UT modifie leur profil fonctionnel. A titre d'exemple, les effets stimulants de l'AngII et de l'Ull sur l'adhésion des cellules exprimant soit AT1 soit UT, disparaissent lorsque les deux récepteurs sont co-exprimés.

Afin de mieux comprendre ces variations de profil fonctionnel d'AT1 et d'UT, nous nous sommes dans un second temps intéressés à la voie de couplage  $G_q/PLC/Ca^{2+}$  commune aux deux récepteurs. Nous montrons que la co-expression d'AT1 et d'UT ne modifie pas leur affinité pour leur ligand respectif. En revanche, cette promiscuité réduit significativement l'efficacité de l'AngII (-40% de la réponse maximale). Un prétraitement des cellules co-exprimant AT1 et UT avec l'Ull ( $10^{-11}$  -  $10^{-6}$  M ; 1h), impliquant une internalisation d'UT, provoque une diminution dose-dépendante (-50 % dès  $10^{-9}$  M) de la mobilisation calcique relayée par le couple AngII/AT1. Des résultats similaires ont été observés avec divers ligands d'UT dont le paralogue de l'Ull (*urotensin-related peptide*, URP) et des ligands biaisés ([Orn<sup>8</sup>]Ull, [Orn<sup>5</sup>]URP). L'effet inhibiteur de l'Ull est respectivement réduit ou aboli lorsque les cellules expriment une forme tronquée (partie C-terminale) ou mutée (suppression du couplage aux protéines G) d'UT. Par ailleurs, de très faibles concentrations d'AngII ( $10^{-11}$  M) potentialisent la réponse calcique induite par l'Ull tandis que le losartan (antagoniste AT1) diminue l'efficacité de l'Ull.

Complétées par des expériences *ex vivo* (tranches organotypiques et organoïdes), ces travaux permettront la mise en place d'études précliniques sur des modèles *in vivo* combinant l'utilisation d'hydrogels gels placés dans la cavité de résection d'un GB et l'imprégnation de ces gels par des ligands d'intérêt thérapeutiques ciblant AT1 et UT.

Soutenu par : Université de Rouen Normandie, Inserm, Géfluc

**Mots clés : GPCR, glioblastome, peptides vasoactifs, chémo-attraction**





## Session Jeunes chercheurs

Manon QUILAN

### Poster

#### 47) Évaluation, par des tests fonctionnels, du niveau minimal d'expression nécessaire au maintien du rôle suppresseur de tumeurs du gène MSH2 : le modèle des variations splicéogéniques de l'exon 5.

Manon QUILAN<sup>1</sup>, Abhijit RATH<sup>2</sup>, Nawel KAABI<sup>3</sup>, Laëticia MEULEMANS<sup>1</sup>, Aurélie DROUET<sup>1</sup>, Marine CAUCHOIS-LEMIÈRE<sup>1</sup>, Julie LECLERC<sup>4,5</sup>, Marie-Pierre BUISINE<sup>4,5</sup>, Stéphanie BAERT-DESURMONT<sup>6</sup>, Florence COULET<sup>3</sup>, Pascaline GAILDRAT<sup>1</sup>, Martine MULERIS<sup>3</sup>, Christopher D. HEINEN<sup>2</sup>, Alexandra MARTINS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Rouen Normandie, Inserm U1245, Cancer and Brain Genomics, FHU-G4 Génomique, F-76000 Rouen

<sup>2</sup> Center for Molecular Oncology, UConn Health, Farmington, CT 06030-3101, USA

<sup>3</sup> Sorbonne University, INSERM, Saint-Antoine Research Center, Microsatellites instability and Cancer, CRSA, Genetics Department, AP-HP, Hôpital Pitié Salpêtrière, Sorbonne University, Paris, France

<sup>4</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, Lille, France

<sup>5</sup> Molecular Oncogenetics, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Lille University Hospital, Lille, France

<sup>6</sup> Univ Rouen Normandie, Inserm U1245, Cancer and Brain Genomics and CHU Rouen, Department of Genetics, FHU-G4 Génomique, F-76000 Rouen

Le syndrome de Lynch (SL) est une prédisposition héréditaire au cancer dû à des altérations constitutionnelles hétérozygotes de gènes impliqués dans la réparation de mésappariements de l'ADN, notamment *MSH2*. Actuellement, de nombreuses variations de *MSH2* restent de signification incertaine (VSI), ce qui représente une limite majeure pour le diagnostic de SL et pour l'optimisation de la prise en charge des patients/leurs familles. Étant donné l'enjeu médical, il est aujourd'hui prioritaire de développer et de calibrer des essais fonctionnels quantitatifs permettant d'améliorer l'interprétation de ces VSI, notamment de celles avec des effets biologiques partiels. Ici, nous avons entrepris de déterminer, à l'aide d'approches fonctionnelles complémentaires, le niveau minimal de transcrits de référence (pleine-longueur, PL) requis pour assurer le rôle suppresseur de tumeurs de *MSH2*. Dans ce but, nous avons utilisé comme modèle les variations non-codantes (synonymes et introniques) potentiellement splicéogéniques de l'exon 5 (*MSH2e5*), exon en phase et essentiel aux fonctions de *MSH2*.

Dans un premier temps, nous avons sélectionné sur la base de prédictions bio-informatiques dédiées à l'épissage de l'ARN les variations non-codantes les plus susceptibles d'induire un saut de *MSH2e5*. L'impact biologique des 24 variations sélectionnées a été ensuite vérifié expérimentalement à l'aide d'un test indicateur d'anomalies d'épissage basé sur l'utilisation de minigènes, et des analyses sur l'ARN de patients, quand disponible. Ceci nous a permis d'identifier 18 variations splicéogéniques avec différents niveaux de sévérité (saut d'exon faible à total). Dans un second temps, sur la base de ces résultats, 8 variations à l'origine d'une diminution graduelle de transcrits PL ont été sélectionnées pour des tests fonctionnels basés sur la modification du génome de cellules souches embryonnaires humaines (hESCs *MSH2+/-*). Les données préliminaires obtenues après évaluation de la tolérance à la méthylation des hESCs modifiées suggèrent que : (i) une variation responsable d'un effet complet sur l'épissage de *MSH2e5* (absence de PL) conduit à la perte de fonction, comme attendu, alors que (ii) les variations à effet partiel sur l'épissage permettent le maintien de l'activité protéique requis à la fonction normale de *MSH2*, même lorsque la diminution des transcrits PL est très importante (PL < 50%, quantification en cours). Ces résultats suggèrent que les cellules humaines tolèrent une diminution considérable de l'expression de *MSH2*.

Nous collectons actuellement des données de patients porteurs des variations analysées (phénotype tumoral, histoire familiale de cancer, co-ségrégation des variations avec la maladie), afin de déterminer leur pathogénicité. L'intégration des résultats permettra d'établir le niveau minimal d'expression nécessaire à la fonction normale de *MSH2* et de calibrer nos tests fonctionnels, ce qui contribuera à l'interprétation clinique de nombreuses VSI.

Financements : RIN2021-100% ; INCa PLBio 2021, Projet *MSH2*-R&P (INCA\_16094)

**Mots clés : Syndrome de Lynch, cancers colorectaux et de l'endomètre, système MMR, MSH2, interprétation de variations génétiques, variations de signification incertaine (VSI), épissage de l'ARN, défauts d'épissage partiels, prédictions in silico, tests fonctionnels**





## Session Jeunes chercheurs

Antonella RAFFO-ROMERO

### Poster

#### 48) Proteomics and mass spectrometry imaging of breast cancer tumoroids to study their heterogeneity.

Antonella RAFFO-ROMERO , Laurine LAGACHE , Nawale HAJJAJI , Isabelle FOURNIER , Marie DUHAMEL , Michel SALZET

Laboratoire de Protéomique, Réponse Inflammatoire et Spectrométrie de Masse (PRISM), INSERM U1192, Université de Lille, 59655 Villeneuve d'Ascq, France

Breast cancer (BC) is the most frequent cancer among women, causing the greatest number of cancer-related deaths. The most widespread breast cancer models to date are the traditional two-dimensional culture (2D culture) or mouse models. Both have shown to have limitations: 2D culture lacks cell-cell or cell-matrix interactions and mice are associated with ethical problems and poorly mimic the human diseases. There is an unmet need to develop novel, more accurate, realistic, standardisable and robust experimentation models.

We have developed two 3D culture models: the first one is BC tumoroids made with a mixture of tumor cells isolated from human and canine BC tissues which are able to self-organize in three dimensions; the second is a bioprinting-assisted 3D culture in which we print different BC cell lines and adipocytes in a bio-ink. To complexify the tumoroids model, we add autologous macrophages isolated from patient's blood in order to study their dynamic distribution and their contribution to the tumor progression. Indeed, macrophages are part of the tumor microenvironment and can represent up to 30% of the tumor mass in certain tumor types. Our goal is to develop different types of 3D culture and make them as complex as possible in order to mimic more faithfully the in vivo conditions.

In this context, and thanks to the mass spectrometry platform present in the laboratory, we have started different studies. A proteomic study has revealed that the tumoroids are very close to the original tumor and that fresh or frozen tumoroids do not significantly modify their proteomic profiles.

In addition, thanks to mass spectrometry imaging, we were able to show that the intratumoral heterogeneity is maintained in the tumoroid model, which is very important to recapitulate in vivo drug responses. Thanks to these results, we became interested in studying the different sub-clones within the tumoroids that represent the intratumoral heterogeneity. We recovered different subpopulations and showed by mass spectrometry imaging their similarities with the tumoroids of origin.

In conclusion, our knowledge in biology together with proteomics and mass spectrometry imaging skills helped us to better characterize the heterogeneity of BC tumoroids.

**Mots clés : Tumoroids, breast cancer, dog, human, proteomics, mass spectrometry imaging.**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Andria RAKOTOMALALA

### Poster

#### 49) Développement et caractérisation de modèles cellulaires originaux pour l'étude du rôle de l'oncohistone H3.3K27M dans le phénotype agressif et résistant des cellules de DIPG.

Andria RAKOTOMALALA<sup>1,2</sup>, Paul LEWANDOWSKI<sup>1,2</sup>, Sirine BOUAOUA<sup>1,2</sup>, Quentin BAILLEUL<sup>1,2</sup>, Marion LE GRAND<sup>3</sup>, William LAINE<sup>1</sup>, Swann MEYER<sup>4</sup>, Paul HUCHEDÉ<sup>4</sup>, Mélanie ARCICASA<sup>1,2</sup>, Christine BAL<sup>1,2</sup>, Audrey VINCENT<sup>1</sup>, Pierre-Olivier ANGRAND<sup>1</sup>, Éric ADRIAENSSENS<sup>1</sup>, Xuefen LE BOURHIS<sup>1</sup>, Jérôme KLUZA<sup>1</sup>, Pierre LEBLOND<sup>4,5</sup>, Marie CASTETS<sup>4</sup>, Eddy PASQUIER<sup>3</sup>, Alessandro FURLAN<sup>1,2</sup>, Samuel MEIGNAN<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 - CANTHER - Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, FRANCE

<sup>2</sup> Tumorigenesis and Resistance to Treatment Unit, Centre Oscar Lambret, F-59000 Lille, FRANCE

<sup>3</sup> Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, Aix-Marseille Université, Inserm, CNRS, Institut Paoli Calmettes, 13009 Marseille, France

<sup>4</sup> Lyon Cancer Research Center, Inserm U1052, 69008 Lyon, France

<sup>5</sup> Lyon Pediatric Hematology and Oncology Institute, 69008 Lyon, France

Malgré un taux de survie à 5 ans global de 75%, les tumeurs cérébrales pédiatriques sont néanmoins en constante augmentation avec, parmi elles, une entité particulière que sont les gliomes diffus de la ligne médiane (DMG) altérés H3K27, dont le pronostic compte parmi les plus sombres avec une médiane de survie inférieure à un an. Ces tumeurs présentent une altération caractéristique de leur paysage épigénétique liée, dans la majorité des cas, à une mutation mono-allélique qui consiste en la substitution de la lysine 27 de l'histone 3 par une méthionine (H3K27M), induisant une altération globale du paysage épigénétique. La forme H3.3K27M, dont environ 65% des DMG localisés au tronc cérébral (ou DIPG) sont porteurs, corrèle avec le pronostic le plus péjoratif et une re-progression plus précoce des tumeurs post-radiothérapie.

Bien que des liens entre la perturbation de l'épigénome induite par H3.3K27M et la tumorigenèse soient établis, des études visant à identifier et comprendre les mécanismes liés à la mutation ayant un potentiel impact sur la réponse aux traitements demeurent nécessaires pour améliorer le pronostic des DIPG.

À cet effet, nous avons établi et caractérisé des modèles cellulaires isogéniques de DIPG *knock-out* (KO) pour l'allèle muté du gène *H3F3A* (codant H3.3). L'invalidation de la mutation dans ces modèles cellulaires engendre une réversion des altérations épigénétiques, en particulier concernant les marques de triméthylation et d'acétylation sur les lysines 27 des histones 3 (H3K27me3/ac). Forts de la validation épigénétique de nos modèles, une étude RNA-seq nous a ensuite permis d'associer un profil transcriptomique à la mutation H3.3K27M. Parmi les gènes différemment exprimés lors de cette étude, un enrichissement en gènes impliqués dans les processus de croissance et d'invasion cellulaire était observé, de manière cohérente avec l'inhibition de croissance constatée dans nos modèles invalidés. D'autre part, les capacités d'invasion de nos modèles sont actuellement à l'étude et des premiers résultats semblent indiquer une réduction de l'invasion dans nos modèles KO.

Par ailleurs, étant donné les liens entre l'altération de l'épigénome et le remaniement du métabolisme des cellules de DIPG, nous avons développé un protocole permettant de caractériser le métabolisme énergétique de nos modèles de réversion cultivés en gliosphères (3D) à l'aide de la technologie  *Seahorse XFe96*. Ce *workflow* nous a permis de montrer que la mutation H3.3K27M n'impacte pas les paramètres du métabolisme de type OXPHOS dans nos modèles. Néanmoins, notre étude transcriptomique suggérait de potentiels changements du métabolisme des lipides associés à la mutation. En ce sens, nous étudions actuellement la possibilité d'un *switch* de dépendance de substrat (e.g., acides gras) lié à la mutation pour alimenter le métabolisme OXPHOS, phénomène ayant été décrit dans d'autres modèles cancéreux comme pouvant être à l'origine de résistances aux traitements.

À ce jour, la radiothérapie constitue l'unique traitement de référence des DIPG qui y présentent néanmoins une réponse transitoire et limitée. Lors de travaux précédents au laboratoire, nous avons montré que l'expression de H3.3K27M dans des cellules de gliomes pédiatriques initialement non mutées pouvait engendrer une radiorésistance. Afin de confirmer ces résultats dans nos modèles de réversion, nous développons actuellement un protocole permettant d'évaluer la réponse à la radiothérapie de nos cellules de DIPG cultivées en suspension. D'autre part, afin d'étudier l'impact de la mutation sur le profil de réponse aux drogues, un screening de 100 composés a récemment été effectué sur nos modèles cellulaires. Cette approche pharmacologique nous a permis d'identifier une dizaine de composés dont l'efficacité est impactée par la mutation. La confirmation des hits obtenus et l'étude de certains des mécanismes moléculaires potentiellement associés sont en cours dans nos modèles.

*In fine*, la caractérisation complète de nos modèles cellulaires isogéniques de réversion nous permettra d'identifier des talons d'Achille et/ou des mécanismes de résistance associés à la mutation H3.3K27M. Nous confirmerons nos résultats sur un panel élargi de modèles obtenu grâce à une collaboration avec l'université de McGill (Montréal). Par la compréhension fine des mécanismes ainsi identifiés, nous escomptons mettre en lumière de potentielles nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement des DIPG.

**Mots clés : gliome pédiatrique, oncohistone, H3.3K27M, métabolisme, résistance aux traitements**





## Session Jeunes chercheurs

Elodie RODZINSKI

### Poster

#### 50) SENSARCOME : Cibler la sénescence radio-induite pour prévenir les sarcomes secondaires post-radiothérapie.



Elodie RODZINSKI, Nathalie MARTIN, Clémentine DE SCHUTTER, Ingrid LOISON, Corinne ABBADIE

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

En France, au moins un patient sur deux atteints de cancer est traité par radiothérapie, seule ou combinée à la chimiothérapie, ce qui représente environ 195 000 patients par an. Les effets curatifs de la radiothérapie sont basés sur la génération de dommages à l'ADN létiaux, notamment des cassures double-brin. Malgré les effets bénéfiques de l'utilisation de la radiothérapie, un des effets secondaires est le développement de seconds premiers cancers (SPC) post-radiothérapie, notamment des sarcomes qui sont de mauvais pronostic. Les seconds sarcomes se développent préférentiellement non pas dans le volume cible mais en marge de celui-ci, après une période de latence comprise entre 5 et 30 ans, ce qui suggère que les cellules saines touchées par les radiations hors champ entrent dans un état de dormance avant de devenir cancéreuses.

En utilisant un modèle de fibroblastes humains normaux de derme, l'équipe a mis en évidence que les particules ionisantes qui diffusent du volume traité vers le volume sain induisent la formation de cassures simple-brin de l'ADN (CSB), en absence de cassures double-brin. Ces cassures s'accumulent au fur et à mesure des irradiations, suite à un défaut de réparation dû à une diminution de formation des foyers de poly (ADP-ribose) (PAR) aux sites des cassures. L'accumulation de CSB dans les fibroblastes conduit au développement d'un phénotype sénescence, un état cellulaire de réponse au stress caractérisé par un arrêt dans le cycle cellulaire associé à une résistance à l'apoptose. L'équipe a également mis en évidence que quelques rares cellules sénescence pouvaient re-entrer dans le cycle cellulaire pour générer des cellules pré-néoplasiques (Goy et al, eLife, 2022). L'hypothèse est que ces cellules seraient à l'origine du développement des sarcomes secondaires.

Les objectifs de ma thèse sont (i) identifier le ou les mécanisme(s) à l'origine de l'accumulation des CSB dans les fibroblastes en marge du volume traité par radiothérapie ; (ii) valider l'accumulation de CSB et le développement de la sénescence dans un modèle murin et (iii) déterminer si l'élimination des cellules sénescence par des sénolytiques permettrait de prévenir le développement de sarcomes secondaires post-radiothérapie.

Concernant le premier objectif, nous avons émis différentes hypothèses pour expliquer la diminution de la formation des foyers de PAR : (i) une diminution de l'expression des enzymes de PARylation, PARP1 et PARP2 ; (ii) une augmentation de l'expression de PARG, l'enzyme de dégradation des chaînes de PAR ; (iii) une modification de l'expression de HPF1 et YB1, des partenaires de PARP1/PARP2 régulant leur activité et (iv) une diminution de la concentration en NAD<sup>+</sup>, le substrat utilisé par PARP1/PARP2 pour former les chaînes de PAR. Les premiers résultats obtenus sur des fibroblastes placés en marge d'un volume irradié à 2 Gy par jour pendant 4, 9 ou 14 jours, montrent une augmentation de l'expression d'ARNm de PARG, d'HPF1 et d'YB1 et une diminution de l'expression de PARP1 et PARP2. En ce qui concerne la concentration en NAD<sup>+</sup>, nous avons examiné l'expression des enzymes de la voie de sauvetage du NAD<sup>+</sup>. L'expression en ARNm de ces enzymes augmente après 4 jours d'irradiation, mais diminue drastiquement après 14 jours. Ces résultats suggèrent donc que le défaut de réparation des CSB pourrait être multifactoriel : d'une part une diminution de la synthèse des PAR due à une diminution d'expression et de régulation de PARP1/PARP2 et à un épuisement du pool de NAD<sup>+</sup>, d'autre part à une augmentation de la dégradation des PAR due à une augmentation d'expression de PARG.

Concernant les objectifs in vivo, nous utilisons un modèle de souris p16-Luc qui permet de suivre l'apparition de sénescence en temps réel par bioluminescence. Les souris sont placées en marge d'un fantôme irradié à 2 Gy par jour pendant 7 semaines. J'ai jusqu'à présent cherché à optimiser la lecture de bioluminescence (temps de lecture, substrats de la luciférase, tonte des souris).

**Mots clés : Sénescence, sarcome secondaire, radiothérapie, dommage à l'ADN**





## Session Jeunes chercheurs

Florian SCHWALEN

### Poster

#### 51) Targeting ovarian cancer with an innovative approach: PROTAC technology.

Florian SCHWALEN, Charline KIEFFER, Anne Sophie VOISIN-CHIRET

Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie CERMN

Ovarian cancer is one of the most lethal cancers in women. The poor prognosis of this cancer is due to its low-level evolution, late discovery, resistance to treatment and lack of specific therapies. The current standard treatment consists of cytoreduction surgery followed by chemotherapy using taxane and platinumium salt derivatives. However, two new targets of interest are emerging which could overcome the observed resistance phenomenon: Mcl-1<sup>(a)</sup> and Bcl-x<sub>L</sub><sup>(b)</sup>. Furthermore, it has been shown that dual inhibition can lead to better results in terms of cytotoxic activity.<sup>(c)</sup> Thus, the goal is to design a dual inhibitor of Mcl-1 and Bcl-x<sub>L</sub>. However, because of their multi-organ localisation, their inhibition results in platelet and cardiac toxicity.<sup>(d),(e)</sup>

In order to avoid these toxicity problems, PROTAC (PROteolysis TArgeting Chimeras) technology is an interesting tool.<sup>(f)</sup> This technology changes the paradigm of the target-receptor model accepted in pharmacology. Indeed, PROTAC uses the cellular machinery, the proteasome, to degrade target proteins and no longer inhibit them. This would make it possible to reduce amounts of compound to reduce undesirable effects.

A synthesis work was initiated in order to develop PROTAC targeting proteins of interest (POI) for the treatment of ovarian cancer: Mcl-1 and Bcl-x<sub>L</sub>. First, we should develop a ligand which targets both Mcl-1 and Bcl-x<sub>L</sub>. Then, we have to select an E3 ligase ligand to allow the ubiquitination of the targeted proteins in order to achieve their degradation. Finally, these two moieties have to be connected thanks to a linker. Design and synthesis path of these tripartite molecules will be described in the poster.

#### Bibliographic references:

(a) Chen, L. et al. Differential Targeting of Prosurvival Bcl-2 Proteins by Their BH3-Only Ligands Allows Complementary Apoptotic Function. *Mol Cell*. **2005**

(b) Walensky, L. et al. BCL-2 in the crosshairs: tipping the balance of life and death. *Cell Death Differ*. **2006**

(c) Simonin, K. et al. Platinum compounds sensitize ovarian carcinoma cells to ABT-737 by modulation of the Mcl-1/Noxa axis. *Apoptosis Int J Program Cell Death*. **2013**

(d) Debrincat, M. et al. BCL-2 is dispensable for thrombopoiesis and platelet survival. *Cell Death Dis*. **2015**

(e) Rasmussen, M. et al. MCL-1 Inhibition by Selective BH3 Mimetics Disrupts Mitochondrial Dynamics Causing Loss of Viability and Functionality of Human Cardiomyocytes. *iScience*. **2020**

(f) Sakamoto K, et al. Protacs: Chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2001**

**Mots clés : Ovarian cancer; Medicinal chemistry; Protein-Protein interaction Mcl-1/Bcl-x<sub>L</sub>; Therapeutic innovation**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Nicolas STOUP

### Poster

#### 52) Le premier peptide ligand ciblant les domaines EGF de la mucine MUC4 rétablit l'accessibilité à l'Herceptin dans le cancer du pancréas *in vitro*.

Nicolas STOUP<sup>1</sup>, Maxime LIBERELLE<sup>2</sup>, Nicolas RENAULT<sup>3</sup>, Leila MOUM<sup>2</sup>, Thomas MEYNARD<sup>1</sup>, Patricia MELNYK<sup>2</sup>, Nicolas LEBÈGUE<sup>2</sup>, Isabelle VAN SEUNINGEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277 – Canther – Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

<sup>2</sup> Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S1172 – LiNC – Lille Neuroscience & Cognition, F-59000 Lille, France

<sup>3</sup> Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1286 – INFINITE - Institute for Translational Research in Inflammation, F-59000 Lille, France

L'adénocarcinome pancréatique représente la forme majoritaire des cancers du pancréas (environ 90% des cas diagnostiqués) mais aussi la plus grave. Il constitue le 9<sup>ème</sup> cancer en termes d'incidence en France mais représente la 4<sup>ème</sup> cause de mortalité par cancer. C'est une pathologie fortement létale, dont la survie à 5 ans n'excède pas 10%. Ce pronostic sombre s'explique majoritairement par un diagnostic tardif de la maladie, le plus souvent à des stades métastatiques ou localement avancés (80 % des patients au diagnostic), mais aussi et surtout par un manque de thérapies efficaces. En effet, les thérapies ciblées, notamment celles visant le récepteur ErbB2 surexprimé dans ce cancer (Herceptin, erlotinib), ainsi que les chimiothérapies conventionnelles (FOLFIRINOX, gemcitabine, Nab-paclitaxel) restent des échecs, constituant des options davantage palliatives que thérapeutiques. En outre, l'incidence de ce cancer (2.5% des cancers diagnostiqués en 2018) est en constante augmentation (+46,4% en France entre 2010 et 2018). L'ensemble de ces facteurs alarmants élèvent donc ce cancer au rang de problème de santé publique inquiétant, pour lequel il est urgent d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Dans ce sens, l'oncomucine MUC4, glycoprotéine transmembranaire, semble émerger comme une cible thérapeutique intéressante, puisqu'elle est néo-exprimée et sur-exprimée dès les stades précoces de la maladie. MUC4 est une large O-glycoprotéine présente à la surface des épithélia, dont le rôle principal est d'assurer l'homéostasie cellulaire, mais qui est fortement dérégulée dans les processus tumoraux. Aussi, MUC4 constitue l'un des seuls partenaires connus d'ErbB2 à la membrane. De plus, nos travaux récents ont montré que les domaines EGF1 et EGF2 présents dans la région extracellulaire de MUC4 interagissaient et activaient l'oncorécepteur ErbB2, participant à la signalisation oncogénique d'ErbB2 et à la progression tumorale. Ces domaines EGF portent donc l'interaction et l'oncogénicité du complexe MUC4-ErbB2. Par conséquent, ils pourraient être ciblés pour moduler les voies pro-tumorales. Ainsi, dans ce travail, nous avons caractérisé les effets anti-prolifératifs *in vitro* du premier peptide inhibiteur ciblant les domaines EGF de MUC4, identifié par un criblage virtuel.

Par des approches d'interaction protéine-protéine (GST pull-down, co-immunoprécipitation, MicroScale Thermophoresis), nous montrons tout d'abord que le peptide ligand se lie spécifiquement aux domaines EGF de MUC4. Ensuite, nous mettons en lumière que le peptide agit comme un inhibiteur pour perturber le complexe MUC4-ErbB2 et diminuer la prolifération des cellules cancéreuses pancréatiques, en altérant l'activation de la signalisation ErbB2 médiée par les domaines MUC4<sub>EGF</sub>. Nous montrons également que la mucine MUC4 diminue l'accessibilité des thérapies ciblées par anticorps visant le récepteur ErbB2 (Herceptin) mais que le peptide inhibiteur restaure l'accessibilité d'ErbB2 à ces thérapies *in vitro*. Enfin, les premiers résultats obtenus par une approche innovante, le Carbene Footprinting, vont permettre de résoudre expérimentalement la structure 3D de l'interface d'interaction entre MUC4 et ErbB2, dans le but d'identifier des molécules à plus fort potentiel thérapeutique.

Ensemble, ces résultats ouvrent la voie à la conception 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 : Mucine, MUC4, domaines EGF, ErbB2, peptide inhibiteur, thérapies ciblées, Herceptin, cancer du pancréas**





## Session Jeunes chercheurs

Rémi TELLIER

### Poster

#### 53) Ciblage des capacités apoptotiques du récepteur MET comme nouvelle stratégie thérapeutique dans les cancers du poumon.

Rémi TELLIER<sup>1</sup>, Agathe LARATTE<sup>1</sup>, Marie FERNANDES<sup>1</sup>, Marie-José TRUONG<sup>1</sup>, Audrey VINCHENT<sup>1</sup>, Jocelyn PEZERIL<sup>2</sup>, Laurent POULAIN<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, UMR9020-UMR1277 - Canther - Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000, Lille, France

<sup>2</sup> Normandie Univ, UNICAEN, Inserm U1086 ANTICIPE, Interdisciplinary Research Unit for Cancer Prevention and Treatment, Federative Structure 4207 «Normandie Oncologie», F. Baclesse Comprehensive Cancer Centre, Caen, France

<sup>3</sup> UNICANCER, F. Baclesse Comprehensive Cancer Centre, Caen, France

Des mutations du récepteur MET sont répertoriés dans 3% des cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC). Ces mutations affectent des sites d'épissage menant au saut en phase de l'exon 14 (MET Ex14) et à l'activation forte et prolongée du récepteur MET. Dans ce contexte, plusieurs essais cliniques ont montré l'efficacité d'inhibiteurs de tyrosine kinase sur la survie sans progression des patients MET Ex14. Cependant, le taux de réponses est inférieur à ceux observés pour d'autres thérapies ciblées. De plus, le traitement de tumeurs MET Ex14 avec un TKI MET ne réduit que partiellement la croissance tumorale de nos modèles animaux. Ces résultats suggèrent que l'activité kinase n'est pas le seul mécanisme impliqué dans la tumorigenèse.

Le saut de l'exon 14 de MET conduit à la perte du domaine juxtamembranaire contenant plusieurs sites de régulation dont la tyrosine phosphorylée 1003 nécessaire au recrutement de l'E3 ubiquitine ligase CBL impliquée dans la dégradation de MET. Cependant, ce domaine contient d'autres sites de régulation dont un site de clivage par les caspases impliqué dans le clivage de MET durant l'apoptose. En effet, l'équipe a montré que le clivage de MET par les caspases conduit à la génération d'un fragment intracellulaire (p40MET) capable d'amplifier l'apoptose via la perméabilisation mitochondriale.

Afin de mieux comprendre le rôle du domaine régulateur juxtamembranaire de MET dans la tumorigenèse, nous avons reconstitué par édition du génome dans des cellules épithéliales pulmonaires normales, soit MET Ex14, soit des versions mutées sur le site de recrutement de CBL, conjointement ou non avec une mutation du site de clivage par les caspases. MET Ex14 induit une activation plus forte et prolongée de ses voies de signalisation, une augmentation de l'invasion, une résistance accrue à l'apoptose et la croissance tumorale dans des modèles murins. Or, ces réponses ne sont pas récapitulées par la seule mutation du site CBL. Seules les mutations conjointes du site caspase et du site CBL restaurent la résistance à l'apoptose et la tumorigenèse in vivo. Ces résultats suggèrent que la transformation induite par MET Ex14 implique deux mécanismes complémentaires, une activation soutenue des voies de signalisation résultante de la perte du site CBL et une résistance à l'apoptose induite par la perte du site caspase.

Notre premier objectif sera de valider l'implication de la perte de p40MET dans la résistance à l'apoptose induite par MET Ex14. Ceci sera réalisé par deux approches complémentaires impliquant soit l'expression inductible de p40MET, soit la réalisation par édition du génome de mutants de MET non-clivables par les caspases. Puisque p40MET amplifie l'apoptose en dérégulant les protéines Bcl-2, notre second objectif sera de définir son rôle dans la modulation des interactions entre ces protéines. Après caractérisation de l'expression des protéines Bcl-2, l'impact de l'expression inductible de p40MET sur leurs interactions sera établi par co-immunoprécipitation. Le dernier objectif sera de proposer une nouvelle stratégie thérapeutique. En effet, la résistance à l'apoptose pouvant contribuer à la tumorigenèse de MET Ex14, les thérapies ciblées actuelles dirigées contre la kinase de MET pourraient être inefficaces. Nous proposons d'évaluer l'efficacité de BH3 mimétiques, capables d'interagir avec les protéines Bcl-2, afin de contrebalancer la résistance à l'apoptose. L'effet du traitement combiné d'un TKI ciblant MET et de BH3 mimétiques sur la croissance tumorale sera déterminé par xénogreffes de cellules MET Ex14 en souris.

**Mots clés : cancer du poumon, récepteur tyrosine kinase, thérapies ciblées, apoptose**





## Session Jeunes chercheurs

Lisa TERRASSOUX

### Poster

#### 54) Etablissement et caractérisation d'une tumeur-sur-puce mimant le microenvironnement tumoral des DIPG.

Lisa TERRASSOUX<sup>1,2</sup>, Salimata BACARI<sup>1,2</sup>, Joanne BALSAMELLI<sup>1,2</sup>, Christine BAL<sup>1,2</sup>, Mélanie ARCICASA<sup>1,2</sup>, Caroline MYSIOREK<sup>3</sup>, Fabrice SONCIN<sup>4</sup>, Anthony TREIZEBRE<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Univ.Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, UMR90-20-U1277-CANTHER-Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, 59000 LILLE, France

<sup>2</sup> Unité Tumorigénèse et Résistance aux traitements, Centre Oscar Lambret, 59000 LILLE, France

<sup>3</sup> Univ. Artois, UR 2465, Laboratoire de la Barrière-Hémato-Encéphalique (LBHE), 62307, LENS, France

<sup>4</sup> Univ.Lille, CNRS, Centre Oscar Lambret, SMMil-E project, CNRS Délégation Nord-Pas de Calais et Picardie, 59046 LILLE, France

<sup>5</sup> Univ.Lille, UMR 8520, Institute of Electronic, Microelectronic and Nanotechnology (IEMN), 59652 Villeneuve d'Ascq, France,

Les gliomes pédiatriques constituent la première cause de décès par cancer chez les enfants de moins de 14 ans. Parmi ceux-ci, les DIPG (Diffuse Intrinsic Pontine Glioma), présentent un pronostic des plus sombres, avec une médiane de survie inférieure à 1 an. Suite à la découverte des mutations récurrentes H3K27M, de nouvelles stratégies ciblant les mécanismes épigénétiques ont été proposées, avec des résultats pré-cliniques très prometteurs. Malheureusement, les essais cliniques menés avec ces stratégies ont pour l'instant échoué à améliorer la survie des patients.

Nous avons émis l'hypothèse que cette divergence entre résultats pré-cliniques et cliniques pourrait être due à l'absence dans nos modèles de divers éléments clés du microenvironnement tumoral natif impliqués dans la réponse aux thérapies. C'est pourquoi nous cherchons notamment à reproduire un gradient d'hypoxie, fréquent dans les tumeurs solides et associé à la radio et chimio- résistance tumorale, et à intégrer une barrière hémato-encéphalique (BHE) qui constitue un frein majeur aux traitements par agents pharmacologiques des tumeurs cérébrales.

Afin de répondre à cet objectif, j'ai développé un design de tumeur-sur-puce contenant des cellules de DIPG cultivées dans une matrice 3D, connectée grâce à un circuit microfluidique à un modèle fonctionnel et validé de BHE humaine (collaboration avec le Laboratoire de la Barrière Hémato-Encéphalique de Lens).

La caractérisation de ce modèle au niveau phénotypique et moléculaire est réalisée par vidéomicroscopie et immunofluorescence respectivement. J'ai validé la mise en place d'un gradient d'hypoxie dans la tumeur-sur-puce, corrélé avec un gradient de densité cellulaire et de prolifération. Les résultats préliminaires indiquent une hétérogénéité de réponse aux traitements pharmacologiques et de radiothérapie. La connexion avec le modèle de BHE a aussi pu être récemment validée, et la caractérisation de l'impact de cette co-culture sur la réponse aux traitements sera prochainement effectuée.

**Mots clés : Tumeur sur puce ; oncologie ; DIPG ; microfluidique ; hypoxie**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Lucie THOREL

### Poster

#### 55) Automatisation de l'évaluation de la recombinaison homologue médiée par RAD51 dans les organoïdes tumoraux dérivés de patientes atteintes de cancers de l'ovaire.

Lucie THOREL<sup>1</sup>, Pierre-Marie MORICE<sup>1</sup>, Nicolas ELIE<sup>2</sup>, Louis-Bastien WEISWALD<sup>1,3,4</sup>, Romane FLORENT<sup>3,4</sup>, Florence GIFFARD<sup>1,2,3</sup>, Margaux JACOBS<sup>1</sup>, Agathe RICOU<sup>3,5,6</sup>, Raphael LEMAN<sup>3,5,6</sup>, Guillaume BABIN<sup>3,7</sup>, Jean-François LEBRUN<sup>3,7</sup>, Sandrine MARTIN<sup>3,7</sup>, Mélanie BRIAND<sup>1,8,9</sup>, Benoit GOUDERGUES<sup>8,9</sup>, Bernard LAMBERT<sup>1</sup>, Cécile BLANC-FOURNIER<sup>1,10,3,8,9</sup>, Dominique VAUR<sup>3,5,6</sup>, Benoit PLANCOULAIN<sup>1,11,2</sup>, Laurent POULAIN<sup>1,3,4,8,9</sup>

<sup>1</sup> Université de Caen Normandie, INSERM, ANTICIPE U1086, Unité de Recherche Interdisciplinaire pour la Prévention et le Traitement des Cancers, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>2</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Plateforme Virtual'His, 14000 Caen, France

<sup>3</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, 14000 Caen, France

<sup>4</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON «plateforme de soutien aux activités de recherche préclinique et translationnelle en oncologie», Plateforme ORGAPRED, 14000 Caen, France

<sup>5</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, Service d'Oncogénétique, 14000 Caen, France

<sup>6</sup> Université de Normandie, UNIROUEN, INSERM, U1245, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, 76000 Rouen, 14000 Caen, France

<sup>7</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, Département de Chirurgie, 14000 Caen, France

<sup>8</sup> Université de Caen Normandie, Unité de Services PLATON « Centre de ressources biologiques - OvaResources », 14000 Caen, France

<sup>9</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, « Centre de ressources biologiques - OvaResources », 14000 Caen, France

<sup>10</sup> UNICANCER, Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse, Service de Pathologie, 14000 Caen, France

<sup>11</sup> Université de Vilnius, Département de Pathologie, Médecine légale et pharmacologie, Faculté de médecine, Institut des sciences biomédicales, Vilnius, Lituanie

Des essais approfondis sur les inhibiteurs de la PARP (PARPi) ont montré qu'ils améliorent la survie sans progression chez les patientes atteintes de divers cancers, dont le cancer de l'ovaire. Cette amélioration est particulièrement marquée chez les patientes porteuses de mutations BRCA, et dans les sous-groupes présentant une déficience de la recombinaison homologue (HRD). Aujourd'hui encore, l'identification des patients éligibles pour PARPi reste un défi pour les chercheurs et cliniciens. Les méthodes actuelles utilisent l'analyse par séquençage de nouvelle génération (NGS), mais la persistance de cicatrices génomiques dans les tumeurs après la restauration d'une recombinaison homologue compétente ou de changements épigénétiques est une des limitations du NGS. Des tests fonctionnels pourraient être utilisés pour améliorer la détermination du statut HR et identifier de manière plus fiable les tumeurs HRD. Le test RECAP (REpair CAPacity test) évalue la formation de foyers RAD51 dans les cellules en prolifération après irradiation et peut être utilisé sur des tissus cancéreux primaires frais irradiés ex vivo ainsi que sur des organoïdes tumoraux dérivés de patients (PDTO). Cependant, le marquage des foyers RAD51 est souvent effectué manuellement sans possibilité de standardisation des techniques. En revanche, les progrès récents de l'imagerie sur lame entière, qui permettent de scanner une lame de microscope complète et de créer un seul fichier numérique à haute résolution, pourraient représenter une opportunité d'automatiser l'évaluation du statut HR. Le but de cette étude translationnelle était de développer un outil automatisé pour évaluer la recombinaison homologue médiée par RAD51, d'utiliser cet outil sur des PDTO ovariens et de comparer le résultat à la sensibilité à l'olaparib (PARPi), déterminée par l'exposition directe des PDTO au traitement. Nous montrons que l'immunofluorescence des foyers RAD51 peut être automatiquement détectée et quantifiée dans les noyaux positifs à la Cycline A2 dans toutes les cellules de chaque tranche de PDTO, offrant ainsi une nouvelle opportunité pour la gestion de routine et la standardisation de l'évaluation du statut HR dans les PDTO qui va au-delà de l'estimation manuelle largement utilisée. Enfin, cette notation automatisée sera optimisée pour évaluer directement la HR sur des tranches de tumeur afin de faire du test RECAP un outil d'oncologie de précision fonctionnelle très pertinent pour identifier les patients susceptibles de bénéficier d'un traitement par un PARPi

**Mots clés : organoïdes tumoraux, recombinaison homologue, test fonctionnel, cancer de l'ovaire**





## Session Jeunes chercheurs

Sofia TITAH

### Poster

#### 56) Étude fonctionnelle de l'homéostasie calcique dans les cellules persistantes/résiduelles dans la leucémie aiguë myéloïde : apport de la micro-fluidique.

Sofia TITAH<sup>1,2</sup>, Aurélie GUILLEMETTE<sup>1</sup>, Clara LEWUILLON<sup>1</sup>, Shaik FARUK AZAM<sup>3</sup>, Pauline PEYROUZE<sup>1</sup>, Nathalie JOUY<sup>4</sup>, Meyling CHEOK<sup>1</sup>, Dominique COLLARD<sup>3</sup>, Bruno QUESNEL<sup>1</sup>, Mehmet Cagatay TARHAN<sup>3</sup>, Loïc LEMONNIER<sup>2</sup>, Yasmine TOUIL<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Univ. Lille, Inserm, U1003 - PHYCELL - Physiologie Cellulaire, F-59000 Lille, France Laboratory of Excellence, Ion Channels Science and Therapeutics, Villeneuve d'Ascq, France

<sup>3</sup> CNRS, IIS, COL, Univ. Lille SMMiL-E project, Lille, France

<sup>4</sup> UMS 2014/US4

La maladie résiduelle minimale (MRD) observée dans la leucémie myéloïde aiguë (LAM) est due à la persistance d'un petit nombre de cellules leucémiques qui échappent à la chimiothérapie et à la surveillance du système immunitaire. Ces cellules leucémiques résiduelles peuvent se nichier et persister au sein de la moelle osseuse des patients LAM. Les rechutes étant fréquentes, dans plus de 50% des cas dans un délai de 2 mois à 5 ans, il est crucial de caractériser ces cellules leucémiques résiduelles.

Une publication récente du laboratoire a montré *in vitro* la sous-expression du canal calcique ORAI1 dans les cellules leucémiques de patients, et son implication dans la quiescence des cellules chimio-résistantes ayant des propriétés de cellules souches. De plus, une autre étude a montré qu'un isoforme de NFAT (Nuclear Factor of Activated T cell) était sur-exprimé dans les cellules leucémiques à la rechute. Un des objectifs au cours de ma thèse est d'explorer la signature calcique des cellules leucémiques résiduelles ou persistantes de patients atteints de LAM, en commençant par le rôle potentiel des canaux ORAI1 dans ces cellules.

Les cellules leucémiques de patients atteints de LAM de souris PDX (Patient Derived Xenograft), un modèle de MRD développé par le laboratoire, seront triées par cytométrie en flux sur la base de marqueurs cellulaires humains. En parallèle, des cellules de patients LAM au diagnostic seront traitées *in vitro* à la cytarabine, un agent chimiothérapeutique utilisé couramment en clinique, afin d'isoler les cellules persistantes au traitement. Ces cellules résiduelles ou persistantes seront utilisées afin d'analyser l'homéostasie calcique (activité des canaux calciques ORAI1). En raison de la faible quantité de cellules, des dispositifs de micro-fluidiques seront utilisés afin de les capturer et d'analyser leur flux calcique en temps réel. Ces réponses seront caractérisées par l'injection de modulateurs pharmacologiques des canaux calciques afin d'évaluer l'activité du canal calcique ORAI1. L'analyse de l'expression des canaux SOC et des isoformes de NFAT sera également réalisée par qPCR.

D'après les résultats préliminaires, les cellules leucémiques résiduelles humaines du modèle MRD semblent présenter une homéostasie calcique altérée qui se caractérise par une baisse d'activité et d'expression du canal calcique SOC ORAI1.

Au cours de ma thèse un des objectifs sera de mieux définir l'implication du canal SOC ORAI1 ainsi que l'implication des différents isoformes de NFAT dans la persistance de ces cellules leucémiques résiduelles.

**Mots clés : maladie minimale résiduelle, leucémie aiguë myéloïde, calcium**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Ferdinand TRINEL

### Poster

#### 57) Rôle de la O-GlcNAcylation dans la réponse des cellules cancéreuses coliques à la chimiothérapie FOLFOX.

Ferdinand TRINEL, Stephan HARDIVILLE, Celine SCHULZ, Tony LEFEBVRE, Ikram EL YAZIDI-BELKOURA

UGSF UMR8576 - Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle

En France, en 2020, le cancer colorectal (CCR) est classé 4<sup>ième</sup> cancer le plus fréquent et 3<sup>ième</sup> cause de mortalité par cancer. Ce cancer est ainsi un problème majeur de santé publique. En plus d'être des facteurs de risque du CCR, les désordres métaboliques, tels le diabète de type 2 et l'obésité, sont associés à la récurrence de ce cancer après traitement à base de 5-FluoroUracile (5-FU)<sup>1,2</sup>. La thérapie FOLFOX, actuellement chimiothérapie de référence utilisée dans le traitement du CCR, est composée d'Acide Folinique (Leucovorine), de 5-FU et d'Oxaliplatine. Le 5-FU est un antimétabolite fluoré analogue de l'Uracile. Il est métabolisé en plusieurs molécules actives, s'incorporant dans l'ADN, les ARN, ou capables de se complexer à la Thymidylate Synthase (TS) et ainsi l'inhiber. L'Acide Folinique est utilisé comme biomodulateur afin de potentialiser l'inhibition stable de la TS par le 5-FU. L'Oxaliplatine est une drogue platinée qui provoque de lourds dommages à l'ADN. La combinaison de ces molécules entraîne ainsi un arrêt du cycle cellulaire, par inhibition de la biosynthèse de la thymine, et de lourds dommages à l'ADN/ARNs conduisant à l'arrêt de la prolifération et à l'apoptose des cellules cancéreuses.

Deux à 5% du glucose entrant dans la cellule est pris en charge par la Voie de Biosynthèse des Hexosamines (Hexosamine Biosynthetic Pathway, HBP), permettant la synthèse d'un métabolite particulier: l'UDP-GlcNAc (Uridine Di Phosphate-N-acétylglucosamine). Cette voie est un senseur nutritionnel cellulaire, au carrefour des métabolismes des glucides, des acides aminés, des acides gras, et des nucléotides. La O-GlcNAcylation est une modification post-traductionnelle réversible contrôlée par le couple d'enzymes OGT et OGA (respectivement O-GlcNAc Transférase et O-GlcNAcase). Cette glycosylation correspond au transfert du groupement GlcNAc de l'UDP-GlcNAc sur une protéine cible, et participe à de nombreux processus biologiques tels que le contrôle du cycle et de la signalisation cellulaires.

Les niveaux de O-GlcNAcylation globale et d'OGT ont été retrouvés augmentés dans de nombreux cancers, dont le CCR<sup>3</sup>, et participent à la prolifération et la migration<sup>4</sup>.

Récemment, notre équipe a montré que la TS, la cible du 5-FU, est stabilisée par O-GlcNAcylation. In vitro, l'hyper-O-GlcNAcylation induite par inhibition de l'OGA, sensibilise les cellules coliques cancéreuses humaines HT-29 aux effets cytotoxiques du 5-FU, et diminue, in vivo, le grade et le nombre de tumeurs coliques induites en modèle murin<sup>5</sup>.

Dans ce travail nous avons analysé l'impact de la O-GlcNAcylation sur la réponse des cellules cancéreuses coliques à la thérapie FOLFOX complète et non au seul 5-FU, et réciproquement. Nous avons utilisé 3 modèles cellulaires, CCD 841 CoN, lignée cellulaire colique foetale normale, ainsi que HT-29, lignée d'adénocarcinome colique, sensible ou résistante au 5-FU, et également des organoïdes coliques sains Col et cancéreux Traco2, dérivés de patients. Après 72h de traitement en présence ou non de FOLFOX et d'inhibiteurs de l'OGT ou de l'OGA (respectivement OSMI-4 ou Thiamet G), l'étude de marqueurs de dommages à l'ADN et d'apoptose, par Western Blot et Immunocytochimie, montrent que l'augmentation de la O-GlcNAcylation, par inhibition de l'OGA, potentialise la réponse à FOLFOX des cellules HT-29, en lien avec l'inhibition de la TS. Par test MTS et comptage cellulaire, et par vidéo-microscopie sur organoïdes, nous montrons que la prolifération et l'apoptose en présence de FOLFOX sont respectivement diminuée et augmentée par augmentation de la O-GlcNAcylation cellulaire. Nous mettons en évidence également que le traitement FOLFOX contribue à la modulation de la O-GlcNAcylation cellulaire et du couple OGT/OGA.

Ces recherches préliminaires, une fois approfondies, permettront de décrypter, sur le plan fondamental, le dialogue moléculaire entre O-GlcNAcylation et réponse à la chimiothérapie FOLFOX du CCR et autres cancers traités par cette thérapie.

<sup>1</sup> Meyerhardt JA et al. *JNCI J Natl Cancer Inst* (2012). doi: 10.1093/jnci/djs399

<sup>2</sup> Dignam JJ et al. *JNCI J Natl Cancer Inst* (2006). doi: 10.1093/jnci/djj442

<sup>3</sup> Mi W et al. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* (2011). doi: 10.1016/j.bbadis.2011.01.009

<sup>4</sup> Steenackers A et al. *Front Endocrinol* (2016). doi: 10.3389/fendo.2016.00046

<sup>5</sup> Very N et al. *Oncogene* (2022). doi: 10.1038/s41388-021-02121-9

**Mots clés : Cancer Colorectal, Thérapie FOLFOX, 5-Fluorouracile, Acide folinique, Oxaliplatine, O-GlcNAcylation**





## Session Jeunes chercheurs

Camille TRIOËN

### Poster

#### 58) Proposition d'une Nouvelle Stratégie d'Immunothérapie Anti-Galectine 9 ciblant les Exosomes tumoraux de Carcinome du Nasopharynx.

Camille TRIOËN <sup>1\*</sup>, Anthony LEFEBVRE <sup>1\*</sup>, Bertrand LEROUX <sup>1</sup>, Nadira DELHEM <sup>1\*</sup> and Olivier MORALÈS <sup>1,2\*</sup>.

<sup>\*</sup> Equally contributed Authors

<sup>1</sup> INSERM U1189 OncoThAI – Assisted Laser Therapy and Immunotherapy for Oncology, Université de Lille, CHU de Lille, ONCOLILLE, France

<sup>2</sup> CNRS UMS 3702

**Introduction :** Le carcinome du nasopharynx (CNP) est un cancer chimio-radiosensible qui permet un contrôle relativement efficace de la tumeur primaire. Néanmoins, en raison d'une prise en charge thérapeutique tardive et d'un fort potentiel métastatique, le pronostic des patients s'assombrit. A ce jour, il reste donc peu d'options thérapeutiques pour les patients présentant des cancers avancés ou récidivants. Cet échec thérapeutique peut s'expliquer de par la présence d'un microenvironnement tumoral immunosuppresseur dominé principalement par les lymphocytes T régulateurs (Tregs) et les exosomes tumoraux (ExoCNP), ayant tous deux des propriétés immunosuppresseuses. En effet, les ExoCNP sont notamment porteurs de la Galectine-9 (Gal9), une lectine ayant la capacité d'induire la mort par apoptose des cellules immunitaires. De façon intéressante, des résultats du laboratoire ont montré que ces ExoCNP-Gal9+ potentialisaient l'activité suppressive et le recrutement des lymphocytes T régulateurs (Treg) et induisaient l'émergence de cellules dendritiques aux propriétés tolérogéniques (mregDC). **Dans ce contexte, l'objectif de ce projet vise à évaluer une nouvelle stratégie thérapeutique ciblant les exosomes tumoraux de CNP en proposant une immunothérapie directe ciblant la Gal9 exosomale.**

**Matériels et méthodes :** 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 [test de suppression avec PBMC]. Quant aux cellules dendritiques, elles ont été générées à partir de monocytes humains en présence de Gal9 recombinante (DC-Gal9) ou d'ExoCNP-Gal9+ (DC-ExoCNP-Gal9+). L'état de maturation des DC ainsi générées a été validé au niveau phénotypique par analyse en cytométrie de flux des marqueurs membranaires spécifiques de l'état de maturation. Le statut phénotypique des DC a été validé au niveau fonctionnel par une analyse du sécrétome cytokinique par ELISA et par un test de suppression [co-culture des DC avec des LTCD3+ totaux]. Enfin, nous avons évalué l'effet du blocage de la Gal9 recombinante et exosomale sur la maturation et la fonction suppressive des DC, par l'utilisation d'un anti-Gal-9 [1G3 breveté par le laboratoire].

**Résultats :** Les résultats obtenus montrent que les DC-Gal9 et DC-ExoCNP-Gal9+ présentent une expression des marqueurs de maturation semblables aux DC matures contrôles (mDC). Les DC-Gal9 présentent également un profil de sécrétion cytokinique identique au mDC en faveur d'une activation de la réponse immunitaire, *a contrario* des DC-ExoCNP-Gal9+ qui présentent un sécrétome appauvri en cytokines pro inflammatoires (IL-12 et IL-6) et enrichi en IL-4. Néanmoins, les résultats montrent qu'à la fois les DC-Gal9 et les DC-ExoCNP-Gal9+ possèdent des propriétés immunosuppresseuses en induisant une diminution de la prolifération des LTCD3+. De façon intéressante, l'utilisation d'un anticorps ciblant la Gal9 semble capable (i) d'inhiber les fonctions suppressives des ExoCNP en restaurant la prolifération des PBMC autologues et (ii) d'inhiber la fonction suppressive des DC-ExoCNP et des DC-Gal9 en restaurant la prolifération des LTCD3+.

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que la Gal9 recombinante, au même titre que les ExoCNP-Gal9+, induisaient des DC matures mais aux propriétés tolérogènes. De plus, l'utilisation d'un anticorps neutralisant la Gal9 induit une réversion des propriétés suppressives des ExoCNP confirmant l'implication de la Galectine-9 dans ce mécanisme. L'ensemble de ses résultats entourent donc des perspectives immunothérapeutiques très prometteuses dans la prise en charge des patients atteints de CNP.

<sup>1</sup> 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.

<sup>2</sup> Anthony Lefebvre, Sarah Renaud, William Laine, Benjamin Hennart, Delphine Allorge, Jérôme Kluza, Nadira Delhem\* and Olivier Morales\*. Equally contributed authors. Nasopharyngeal carcinoma exosomes modify the metabolism status of human dendritic cells and favour their recruitment through the CCL20 chemokine. *J Extracell Vesicles.* 2020; 9 (Suppl 1): 178451

**Mots clés :** Immunothérapie, Carcinome du Nasopharynx, Galectine-9, Exosomes, Treg, DC Tolérogènes





## Session Jeunes chercheurs

Julie VREVIN

### Poster

#### 59) Évaluation d'inhibiteurs du complexe transcriptionnel d'*HOXA9* comme nouvelle stratégie d'induction de la différenciation, à visée thérapeutique, dans les leucémies aigües myéloïdes.

Julie VREVIN<sup>1</sup>, Anne DUFOUR<sup>1</sup>, Sabine DEPAUW<sup>1</sup>, Inès KEHILI<sup>1</sup>, David W. BOYKIN<sup>2</sup>, Marie-Hélène DAVID-CORDONNIER<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Center for Diagnostics and Therapeutics, Georgia State University 50 Decatur St SE Atlanta GA 30303 USA

La leucémie aigüe myéloïde (LAM) est une hémopathie maligne caractérisée par un blocage de la différenciation des précurseurs/progéniteurs myéloïdes résultant d'altérations génétiques et/ou translocations chromosomiques, souvent multiples et associées avec une certaine prévalence. Ces cellules immatures (blastes) vont progressivement envahir la moelle, le sang et les organes des patients. Les traitements actuels, reposant sur des chimiothérapies conventionnelles alliant aracytine et une anthracycline, ne permettent que 30% de survie à 5 ans des patients <65 ans et seulement <5% pour les plus âgés et sont associés à un fort taux de rechute (40%). Compte-tenu de ces résultats cliniques, de nouvelles approches thérapeutiques restent donc à développer pour espérer améliorer la survie des patients. La malignité de la LAM étant liée à un blocage de la maturation des lignées médullaires myéloïdes normales, une approche thérapeutique originale de « thérapie différenciatrice » a fait ses preuves depuis plus de 30 ans pour le sous-type de LAM pro-myélocytaire pour lequel l'ATRA induit une différenciation des blastes en granulocytes matures. Ce traitement différenciateur a permis d'augmenter la survie à 5 ans des patients à plus de 90% contre 5-10% auparavant. Ces dernières années, de nouvelles thérapies différenciatrices ont vu le jour, avec notamment l'enasidenib et l'ivosidenib pour les LAM à mutations IDH1/2. Ce type de mutations ne représentant que 10-15% des LAM, il reste urgent de trouver de nouvelles cibles et de nouveaux médicaments les ciblant afin de compléter l'arsenal thérapeutique des LAM en agents différenciateurs.

Le facteur de transcription *HOXA9*, retrouvé surexprimé dans plus de 70% des LAM, est associé à un pronostic défavorable. Une addiction à l'oncogène *HOXA9* a été démontrée dans de nombreux sous-types de LAM de manière associée au blocage de la différenciation myéloïde conduisant à une accumulation des blastes au sein des compartiments médullaires, en faisant ainsi une cible thérapeutique pertinente. Plus particulièrement, c'est l'activité de liaison à l'ADN d'*HOXA9*, en collaboration avec son cofacteur *PBX3*, qui est responsable de la dépendance oncogénique. Cette co-expression *HOXA9/PBX3* est associée à un pronostic plus défavorable.

L'objectif de ce travail repose donc sur l'évaluation d'inhibiteurs de la fonction d'interaction à l'ADN du complexe *HOXA9* pour lever le blocage de la différenciation myéloïde dans la LAM. Pour cela, deux inhibiteurs ont été sélectionnés et ont été évalués sur deux lignées cellulaires leucémiques humaines (THP-1 et OCI-AML3), modèles de la surexpression d'*HOXA9*, et sur des blastes primaires de patients obtenus en collaboration avec le service d'hématologie du CHU de Lille. A terme, l'objectif est de déterminer si ces derniers pourraient représenter une nouvelle thérapie différenciatrice pouvant être appliquée à 70% des LAM, indépendamment de leur profil mutationnel complexe.

Des études morphologiques, moléculaires, géniques et fonctionnelles de la différenciation ont été entreprises afin d'évaluer leur capacité à « réduire » les cellules leucémiques immatures en cellules plus matures. Nos résultats ont mis en évidence, qu'en réponse à nos inhibiteurs, les différents modèles présentent une levée du blocage de la différenciation myéloïde.

En effet, les lignées traitées ont montré leur engagement dans une voie de différenciation caractérisé par un changement morphologique (diminution du ratio nucléo-cytoplasmique, augmentation du nombre de vésicules...) mais également une augmentation des marqueurs de surface monocytaires/macrophagiques avec une population CD11b+/CD14+/CD40+/CD86+ passant de 1 à >30%. Une diminution de la prolifération cellulaire a également été observée ainsi qu'une accumulation des cellules en phase G0/G1 du cycle, passant de 55 à >85%. L'ensemble a été conforté par des tests clonogéniques en méthylcellulose avec une diminution du nombre et de la taille des colonies. De plus, l'induction de la mort cellulaire des cellules leucémiques a également pu être mise en évidence notamment par cytométrie en flux via un marquage Annexine V/Iodure de Propidium.

Par la suite, des études complémentaires *in vivo* seront conduites afin d'évaluer l'impact des inhibiteurs sur ces modèles de leucémie et potentiellement proposer une thérapie différenciatrice pouvant être appliquée dans ces 70% de LAM surexprimant *HOXA9*.

**Mots clés : Leucémie aigüe myéloïde, thérapie différenciatrice, inhibiteurs, *HOXA9*, facteur de transcription**





## Session Jeunes chercheurs

Flavie WOESTELAND

### Poster

#### 60) Développement d'une "métastase-sur-puce" pour suivre l'extravasation des cellules cancéreuses au cours du processus métastatique du cancer du sein.

Flavie WOESTELAND<sup>1</sup>, Aude SIVERY<sup>2</sup>, Marie DENOULET<sup>1</sup>, Mathilde BRULE<sup>1</sup>, Anaïs HOROCHOWSKA<sup>1</sup>, Fabrice SONCIN<sup>3,4</sup>, Xuefen LE BOURHIS<sup>1</sup>, Anthony TREIZEBRE<sup>2</sup>, Chann LAGADEC<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Centre Oscar Lambret, UMR9020 – UMR1277 - Canther – Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France.

<sup>2</sup> 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.

<sup>3</sup> CNRS/IIS/Centre Oscar Lambret/Lille University SMMIL-E Project, CNRS Délégation Hauts-de-France, 43 Avenue le Corbusier, 59800 Lille, France.

<sup>4</sup> CNRS, IRL2820, Laboratory for Integrated Micro Mechatronic Systems, Institute of Industrial Science, University of Tokyo, 4-6-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8505, Japan.

**Introduction :** Avec plus de deux millions de nouveaux cas diagnostiqués par an dans le monde, le cancer du sein a été, en 2020, le cancer le plus diagnostiqué et le plus meurtrier. La cause majeure de cette mortalité (90%) est la formation de métastases affectant des régions vitales, notamment pulmonaires, osseuses, cérébrales et hépatiques. Parmi les différents sous-types du cancer du sein, le triple négatif, n'exprimant ni les récepteurs à la progestérone et aux œstrogènes et ne surexprimant pas le récepteur HER2, est de plus mauvais pronostic avec un risque important de formation de métastases et une survie à 5 ans chutant de 82% à 12% lorsque celles-ci se développent. Face à ce problème de santé publique majeur, il est essentiel d'en apprendre davantage sur les mécanismes du développement métastatique et de caractériser les cellules cancéreuses capables de métastaser, dans le but de les cibler pour limiter le développement de ce processus.

**Méthode :** Notre équipe a développé un outil microfluidique, une "métastase-sur-puce", confectionné en PDMS biocompatible, au design innovant permettant de suivre le devenir de cellules cancéreuses au travers d'une structure endothéliale tridimensionnelle, dans un environnement modulable, et de collecter les cellules ayant extravasé dans le but ultime de les caractériser.

**Résultats :** Nous avons dans un premier temps établi le design de notre puce en double canaux. Le canal supérieur mime une structure vasculaire alors que le canal inférieur permet de collecter les cellules tumorales ayant extravasé au travers de l'endothélium. Ensuite, nous avons optimisé la mise en flux du système et caractérisé la structure endothéliale formée afin de définir les conditions permettant d'obtenir un endothélium complet, confluent et 3D dans le canal supérieur. Puis, nous avons injecté les cellules issues de la culture de lignées de cellules cancéreuses exprimant la GFP, mimant ainsi les cellules tumorales circulantes. Nous avons suivi par microscopie le processus d'extravasation jusqu'à ce que les cellules rejoignent le canal collecteur. Enfin, nous avons collecté ces cellules et analysé l'expression de CD44 (marqueur des cellules cancéreuses), comme preuve de concept de notre capacité d'analyse moléculaire des cellules ayant extravasé.

**Conclusion :** Le design innovant de notre puce combinant la reconstruction d'un endothélium perfusé en microfluidique et un compartiment modulable de récupération des cellules extravasées semble faire de notre modèle un dispositif pertinent, relativement physiologique, pour étudier la dynamique du processus métastatique *in vitro*, tout en permettant la caractérisation moléculaire des cellules possédant la capacité de s'extraire de la circulation sanguine vers une niche cible.

**Mots clés :** Cancer du sein triple négatif, Métastases, Extravasation, Microfluidique

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Lydia ZIANE CHAOUCHE

### Poster

#### 61) Development of activated CAR macrophages for an anti-tumor immunotherapy strategy.

Lydia ZIANE CHAOUCHE<sup>1</sup>, Antonella RAFFO-ROMERO<sup>1</sup>, Nawale HAJJAJI<sup>1</sup>, Suman MITRA<sup>2,3</sup>, Isabelle FOURNIER<sup>1</sup>, Michel SALZET<sup>1,3</sup>, Marie DUHAMEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire PRISM, INSERM U1192

<sup>2</sup> Univ. Lille, CANTHER, CNRS 9020, INSERM UMR 1277, CHU Lille

<sup>3</sup> IRCL - Institut pour la Recherche sur le Cancer de Lille

Anti-cancer immunotherapy approaches are increasingly coveted. Chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy has been shown to be an effective treatment for hematological tumors, but the treatment of solid tumors still lacks effectiveness, due to lower intra-tumor infiltration of CAR-T cells and tumor-induced immunosuppression. Macrophages represent a very large proportion of the tumor environment, participate in many aspects to tumor development and therefore represent interesting therapeutic targets. Macrophages can infiltrate solid tumor tissue and interact with almost all cellular components in the tumor microenvironment. In addition, macrophages can also promote a direct anti-tumor response by phagocytosing tumor cells.

We have developed macrophages expressing a CAR receptor against the HER2 antigen. The CAR receptor possesses an intracellular domain CD3 $\zeta$  having homology with the protein Fc $\epsilon$ RI- $\gamma$ , which once activated by the recognition antibody-antigen, induces the phagocytic activity of macrophages. 72% of macrophages express the CAR after transduction. CAR-M can specifically phagocytose HER2 coated-beads in a much more effective way than WT macrophages. We have then confirmed the capacity of CAR-M to phagocytose HER2+ cancer cell lines. Co-culture of CAR-M with breast cancer tumoroids (HER2+ or HER2-) has also been performed demonstrating their efficacy in a more complex environment.

However, in the tumor microenvironment, due to their plasticity, macrophages tend to adopt an anti-inflammatory phenotype losing their anti-tumor activities. We have therefore developed a combined strategy by inhibiting two proprotein convertases, Furin and PC1/3 in CAR-M. The inhibition of furin or PC1/3 induces an increase in pro-inflammatory markers and maintains macrophage activation in the presence of cancer cells. In addition, HER2+ CAR-M with shFurin or shPC1/3 greatly increases the phagocytic activity on Her2+ beads or Her2+ tumors. These enzymes are therefore phenotypic regulators of macrophages.

Our strategy is therefore based on a double activation of tumor-infiltrating macrophages. The first one consists in boosting the phagocytic activity of macrophages by having them express a CAR receptor targeting a tumor antigen. The second allows their reprogramming towards a pro-inflammatory phenotype by the inhibition of Furin and/or PC1/3 proprotein convertases.

**Mots clés : Immunotherapy, CAR macrophages, proprotein convertases, Furin, PC1/3.**

NOTES





## Session Jeunes chercheurs

Laurine ZIANE (abs)

### 62) Thérapie photodynamique ciblée intracavitaire : Développement d'un dispositif d'illumination innovant pour le traitement de la carcinose péritonéale d'origine ovarienne.

Laurine ZIANE <sup>1</sup>, Grégory BAERT <sup>1</sup>, Yohan KERBAGE <sup>1,2</sup>, Léa BOIDIN <sup>1</sup>, Olivier MORALES <sup>1,3</sup>, Anne-Sophie VIGNION-DEWALLE <sup>1\*</sup> et Nadira DELHEM <sup>1\*</sup>. \*Equally contributed authors

<sup>1</sup> Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1189 ONCO-THAI, Assisted Laser therapy and immunotherapy for Oncology, France

<sup>2</sup> Service de Chirurgie Gynécologique, Hôpital Jeanne de Flandres, CHRU de Lille, Lille, France

<sup>3</sup> CNRS UMS 3702, Lille Institute of Biology, F-59021 Lille, France

**Introduction :** La carcinose péritonéale d'origine ovarienne (CPO) est une évolution du cancer de l'ovaire, représentant la quatrième cause de décès par cancer chez la femme en France. La CPO se caractérise par la dissémination de cellules cancéreuses provenant du cancer de l'ovaire dans tout ou partie de la cavité péritonéale. Le traitement standard de la CPO consiste en une chirurgie de cytoréduction associée à une chimiothérapie. Malheureusement, la chirurgie de cytoréduction est, le plus souvent, incomplète et la chimiothérapie ne permet pas une destruction de la totalité des cellules cancéreuses non réséquées lors de la chirurgie. Ainsi, des cellules cancéreuses résiduelles persistent en dépit du traitement et sont la cause de récurrences intervenant chez 2/3 des patientes traitées. C'est dans ce contexte que la thérapie photodynamique (PDT), prometteuse dans le traitement de cancers en impasse thérapeutique, a été proposée en complément du traitement standard afin de détruire ces cellules cancéreuses résiduelles. La PDT repose sur la réaction photochimique induite par l'interaction des trois éléments que sont l'oxygène naturellement présent au sein des tissus biologiques, un photosensibilisateur administré au patient quelques heures avant la réalisation de la PDT et une lumière capable d'exciter le PS. Cependant, la littérature a mis en évidence le manque de sélectivité des photosensibilisateurs (PS) disponibles pour les cellules cancéreuses conduisant à une destruction non seulement des cellules cancéreuses mais aussi des cellules saines et donc à des effets indésirables graves (perforation digestive, dysfonction rénale...). Le projet PRODYNOV, initié par notre équipe de recherche, a récemment permis le développement d'un PS sélectif breveté dont l'efficacité a été démontrée *in vitro* et *in vivo* dans un modèle préclinique murin. La haute sélectivité de ce PS permet de repositionner la PDT parmi les traitements adjuvants pertinents pour la CPO, à condition qu'un dispositif d'illumination adapté soit développé. Dans ce contexte, **nous proposons dans cette étude plusieurs solutions d'illumination qui ont été évaluées sur la base de deux critères de performance à maximiser : la quantité et l'homogénéité de la lumière délivrée.**

**Matériel et méthodes :** Dans un premier temps, un banc d'essai visant à permettre la détermination des critères de performance a été mis au point. Ce banc d'essai se compose d'un fantôme de cavité péritonéale et de matériels de mesure optique, financés par la Région Hauts-de-France.

L'objectif de ces matériels était de permettre la mesure, pendant l'illumination, de la puissance optique reçue. De l'intégration de ces puissances sur le temps d'illumination, étaient déduites les quantités de lumières délivrées en ces zones et leur homogénéité. Trois dispositifs d'illumination ont ensuite été développés et évalués.

**Résultats :** La dose de lumière moyenne reçue par les 3 dispositifs était respectivement de  $1,44 \times 10^{-1} \text{ J/cm}^2$  (minimum :  $3,89 \times 10^{-3} \text{ J/cm}^2$ , maximum :  $5,62 \times 10^{-1} \text{ J/cm}^2$ ),  $3,07 \times 10^{-2} \text{ J/cm}^2$  (minimum :  $6,58 \times 10^{-3} \text{ J/cm}^2$ , maximum :  $8,34 \times 10^{-2} \text{ J/cm}^2$ ),  $1,47 \times 10^{-1} \text{ J/cm}^2$  (minimum :  $1,02 \times 10^{-2} \text{ J/cm}^2$ , maximum :  $2,68 \times 10^{-1} \text{ J/cm}^2$ ).

Avec un coefficient de variation de 71,7% (contre 87,2% pour le premier dispositif et 119,6% pour le second), le dispositif numéro 3 a permis d'éclairer de manière homogène la plus grande partie de la cavité.

Parce qu'il permet de maximiser la quantité de lumière et l'homogénéité de l'illumination le dispositif numéro 3 a été sélectionné comme procédé d'illumination pour la PDT de la CPO.

**Conclusion-Perspectives :** Ainsi, les trois solutions d'illumination pour la PDT de la CPO ont été proposées et évaluées dans cette étude. L'une de ces solutions a été retenue. Les premiers tests de faisabilité de l'illumination à l'aide de ce dispositif sont actuellement en cours sur le porc. Par ailleurs, l'effet du scialytique, lampe opératoire présente au bloc durant la totalité de l'intervention, est également en cours d'évaluation afin de déterminer si celui-ci est néfaste ou bénéfique au déroulement de la PDT.

**Mots clés :** PDT ciblée, PS, Carcinose Péritonéale Ovarienne, Illumination, Dispositif Médical





## Agenda des prochains évènements du CNO



**Save the date :**

**L'Axe 4 du CNO «Cancer, Cerveau, Cognition»**

organise

**une journée « Microbiote et Cancer »**

**le 5 juillet 2023.**



Journée thématique de l'axe 5 du CNO « Cancers, individu et société »

**« Cancer et emploi »**

**Mercredi 27 septembre 2023**

Le Logis du Roy, Amiens

Comité organisateur : Emmanuel Babin, Christelle Duprez & Kristopher Lamore

La question de l'emploi en oncologie est une problématique de santé publique. Depuis une dizaine d'années, les cliniciens et chercheurs s'intéressent à ce sujet afin d'améliorer l'accompagnement proposé aux patients atteints de cancer et qui sont en âge de travailler. Différentes études ont notamment été réalisées sur les déterminants des issues professionnelles ou sur la mise en place d'interventions visant à accompagner le maintien ou le retour à l'emploi. Le Cancéropôle Nord-Ouest a ainsi souhaité mettre en avant cette thématique pour continuer de sensibiliser les chercheurs et les cliniciens, et développer de nouveaux axes de travail.

L'axe 5 du Cancéropôle Nord-Ouest organise le 27 septembre 2023 de 10h à 16h, en présentiel à Amiens, un temps d'échanges sur le sujet avec tous les acteurs liés de près ou de loin à la santé en cancérologie dans l'interrégion des Hauts de France et de la Normandie.

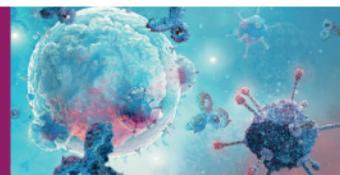
Les équipes seront invitées à proposer en 10 minutes leurs travaux dans différents domaines des sciences sociales et humaines qui ont conduit, ou pourraient conduire, à la mise en place d'une recherche sur la thématique de l'emploi en oncologie. Des temps d'échanges et de questions seront prévus après chaque présentation.

Sont acceptées des présentations de projets déjà formalisés, en cours ou finis, mais aussi des partages d'expérience sur les difficultés rencontrées ou craintes, et les leviers dans la mise en place de projets de recherche sur l'emploi des patients et des proches en oncologie. Que vous soyez clinicien, chercheur ou usager dans l'interrégion des Hauts de France et de la Normandie, faites-nous part de notre expérience sur la thématique !





# 5<sup>èmes</sup> Journées d'Immuno-Oncologie du Nord-Ouest



Sous l'égide du Cancéropôle Nord-Ouest

Vendredi 6 et samedi 7 octobre 2023 - Le Grand-Hôtel, Le Touquet

## Comité scientifique composé de :

**Pr Nadira DELHEM**  
Immunologiste, Institut ONCOLille, Lille

**Pr Florence JOLY**  
Oncologue, Centre François Baclesse, Caen

**Pr Laurent MORTIER**  
Dermatologue, CHU Lille

**Dr Véronique PANCRE**  
Directrice scientifique, Cancéropôle Nord-Ouest

**Pr Arnaud SCHERPEREEL**  
Pneumologue, CHU Lille

SCANNEZ CE QR CODE  
pour intégrer l'événement à votre agenda.



## Vos contacts :

**Audrey HEDOUX**  
06.61.43.96.16  
audrey.hedoux@astrazeneca.com

**Chaymaa BEITAR**  
07.65.16.86.76  
chaymaa.beitar@astrazeneca.com

**Tassadit BOUAZIZ**  
06.77.61.41.78  
tassadit.bouaziz@astrazeneca.com

Les informations recueillies vous concernant font l'objet d'un traitement destiné à AstraZeneca France, société appartenant au groupe AstraZeneca. Les informations recueillies ont notamment pour finalité de nous permettre de gérer nos relations dans le cadre d'opérations promotionnelles ou non promotionnelles. AstraZeneca a désigné un délégué à la protection des données (« DPO ») que vous pouvez contacter par courrier électronique à [privacy@astrazeneca.com](mailto:privacy@astrazeneca.com) en cas de questions. Conformément à la réglementation relative à la protection des données personnelles, vous bénéficiez d'un droit d'accès, de rectification, de portabilité, d'effacement de vos données personnelles ou une limitation de traitement. Vous pouvez exercer ces droits à l'aide de nos formulaires disponibles sur notre site internet <http://afr.zeneca.com> ou par courrier électronique à [privacy@astrazeneca.com](mailto:privacy@astrazeneca.com). Pour de plus amples informations sur l'utilisation et la conservation de vos données à caractère personnel, nous vous invitons à prendre connaissance de la version complète de notre notice d'information relative à la protection des données personnelles disponible sur le site internet suivant : <https://www.globalprivacy.astrazeneca.com/>. Conformément aux articles L.1453-1, R.1453-2 et R.1453-3 du Code de la Santé Publique, AstraZeneca rendra publics, sur la base de données publiques « Base Transparence Santé » et selon les conditions et modalités définies par les lois et réglementations applicables, l'objet précis, la date, le bénéficiaire direct, les éventuels bénéficiaires indirects ou finaux et le montant des contributions qu'elle conclut avec les professionnels de santé, ainsi que les éventuels avantages et rémunérations consentis, notamment dans le cadre de la manifestation. Dans ce cadre, AstraZeneca transmet les informations liées que prévues par la réglementation en vigueur à l'autorité en charge de la publication sur le site suivant. Les professionnels de santé disposent d'un droit d'accès et de rectification aux informations qui les concernent et peuvent exercer ces droits par email adressé à : [TransparenceA2France@astrazeneca.com](mailto:TransparenceA2France@astrazeneca.com). Conformément aux dispositions du Code de la Santé Publique (articles L.1453-1 à L.1453-13), AstraZeneca a soumis pour avis le Conseil de l'Ordre compétent, la nature et le montant des différentes prestations prises en charge à l'occasion de la manifestation. Nous rappelons également que le médecin a pour obligation, selon l'article L.4113-9 du Code de la Santé Publique, de communiquer au Conseil Départemental de l'Ordre dont il relève tout conseil agent pour objet l'exercice de sa profession dans le mois suivant sa conclusion. Aucune hospitalité ne pourra être proposée aux étudiants en formation initiale. Le montant maximal d'un repas est de 50 euros TTC. AstraZeneca France - Tour Carpe Item - 51 Place des Contilles - 90400 Courbevoie. Société par actions simplifiée au capital de 61 146 640 € - R.C.S. Nanterre B 558 201 071.

FR-14951 02/2023 © Propriété du laboratoire AstraZeneca



Le cancer du sein touche en moyenne 53000 femmes par an en France ce qui représente 1/3 des cas de cancer chez la femme. Si le taux de mortalité est en diminution constante, le nombre de décès reste toujours élevé. Le cancer du sein est caractérisé par une forte hétérogénéité de pronostic, allant de près de 100% de survie à 5 ans pour un diagnostic à un stade local, à seulement 25% si le diagnostic est fait à un stade métastatique. Bien que les taux d'incidence soient proches de la moyenne nationale, les Hauts-de-France et la Normandie sont les deux régions où la mortalité est la plus élevée.

**Le 17 octobre 2023** sur le site du CHU de Lille, le Cancéropôle Nord-Ouest propose d'aborder les **différents enjeux du cancer du sein avec les cliniciens et les chercheurs de son inter-région.**

Après un état des lieux sur la pathologie et son épidémiologie, les conférences traiteront du dépistage et de la prise en charge, de la classification de ce cancer, des thérapies innovantes, de l'apport des sciences humaines et sociales, des modèles développés (organoïdes, murins, PDX) ainsi que des avancés de nos laboratoires en termes de recherche fondamentale et pré-clinique.

Cette journée se conclura par **une conférence « grand public »** dans le cadre des animations **d'Octobre Rose sur la sensibilisation du grand public au cancer du sein.**

Un **appel à communication** permettra aux jeunes chercheurs de présenter leurs travaux sous forme de posters.

Un **Comité Scientifique** est en cours de constitution pour élaborer un programme transdisciplinaire qui sera le reflet des expertises de l'inter-région dans le domaine.

15<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques du Cancéropôle Nord-Ouest - 10 au 12 mai 2023 - Deauville

107





## LES TRANSLATIONNELLES

### Les Translationnelles du CNO 2023

seront organisées cette année sur la thématique

du **CANCER DU SEIN,**

en décembre 2023 à Rouen



## ÉVÈNEMENTS

Prochains évènements soutenus par le CNO dans le cadre du programme de "Soutien à l'Organisation d'évènements scientifiques"



Le CNO soutiendra la « 16<sup>th</sup> International Conference of the international Mesothelioma interest groupe (IMIG 2023)» qui se tiendra

du 26 au 28 juin 2023 à Lille.

Toute l'information sur <https://imig2023.org>

Le CNO soutiendra les 15<sup>èmes</sup> journées de l'AFIPP (Association Française pour l'Etude des Infections à Papillomavirus et Polyomavirus) qui se tiendront les 27-28-29 septembre 2023 à Fort-Mahon (80)

Toute l'information sur <https://afipp2023.sciencesconf.org/>





## Bienvenue aux membres du Comité de Pilotage Scientifique du Cancéropôle Nord-Ouest

**L'appel à candidatures lancé fin 2022 pour le renouvellement du  
Comité de Pilotage Scientifique du CNO ( pour la nouvelle labellisation 2023 – 2027)  
a rencontré un vif succès : la nouvelle composition a été validée par le Conseil  
d'Administration du GIP CNO lors de sa séance du 16 décembre 2022.**



- ALVES Arnaud (PU-PH, Chirurgie générale et digestive – CHU de Caen)
- BABIN Emmanuel (PU-PH, Chirurgie Carcinologique et Thyroïdienne – CHU de Caen)
- BOYER Thomas (MCU-PH, Université Picardie Jules Verne-Laboratoire d'Hématologie – CHU Amiens)
- CASTEL Hélène (PhD, Directrice de recherche Inserm – U1245 – Rouen)
- CHEOK Meyling (PhD, Chargée de Recherche Inserm, UMR-9020-U1277, ONCOLille, Lille)
- DUPREZ Christelle (PhD, Ingénieure de recherche – SCALab – Lille)
- FURLAN Alessandro (PhD, Maître de Conférence, UMR-9020-U1277, ONCOLille, Lille)
- GAUTIER Mathieu (PhD, Professeur des Universités, Directeur-Adjoint du Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Moléculaire UR-UPJV 4667, Amiens)
- GUILLAUME Elodie (PhD, Ingénieure d'Etudes, U1086 INSERM "ANTICIPE", cheffe de projet Mammobile, Caen)
- JARDIN Fabrice (PU-PH, Directeur de la Recherche CLCC Henri Becquerel – Rouen)
- JOLY Florence (MD-PhD, Oncologue médicale, Directrice scientifique CLCC François Baclesse – Caen)
- JONCKHEERE Nicolas (Chargé de Recherche CRCN, UMR9020 CNRS – UMR-S1277, ONCOLille Lille)
- LAMORE Kristopher (PhD, Titulaire de la Chaire d'excellence SHS-INCa en psycho-oncologie – SCALab – Lille)
- LAUNOY Guy (PU-PH Epidémiologie et Santé Publique, Président du CNO, Directeur de la plateforme MapInMed du CNO, ANTICIPE – Caen)
- LE FEL Johan (Psychologue, CLCC Henri Becquerel, Rouen)
- LEJEUNE Fabrice (PhD, Chargé de Recherche, UMR9020 CNRS – UMR-S1277, ONCOLille Lille)
- MARTINS Alexandra (PhD, Chargée de recherche Hors Classe Inserm – U1245 – Rouen)
- PANCRE Véronique (PhD, Directrice de Recherche Inserm, Directrice scientifique du CNO – Lille)
- PASQUIER David (MD-PhD, Oncologue radiothérapeute – CLCC Oscar Lambret – Lille)
- POULAIN Laurent (PhD, Directeur de Recherche Baclesse, coordinateur du réseau ORGANO – Caen)
- THUREAU Sébastien (MD-PhD, Oncologue radiothérapeute – CLCC Henri Becquerel – Rouen)
- TOILLON Robert-Alain (PhD, Professeur des Universités, UMR9020 CNRS – UMR-S1277, Université de Lille)
- TULASNE David (PhD, Directeur de recherche Inserm – CANTHER – ONCOLille)
- TREIZEBRE Anthony (PhD, Maître de Conférence, IEMN UMr 8520, Université de Lille)
- VALABLE Samuel (PhD, Directeur de Recherche, ISTCT UMR 6030 CNRS – Université de Caen)
- VOISIN-CHIRET Anne Sophie (PhD, Professeur des Universités, Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie CERMN, Université de Caen)



## 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
AURY Landas Juliette	1	44	3 & 4	LENTÉ Marion	29	72	1
AUWERCX Julie	Com Orale 1	33	1	LEROY Alice	30	73	1
BINARELLI Giulia	2	45	4	LEVACHER Corentin	Com Orale 4	36	1
BINARELLI Giulia	3	46	4	LEWANDOWSKI Paul	31	74	4
BIOJOUT Tiphaine	4	47	1	LOUVIEAUX Joséphine	32	75	1
BOIDIN Léa	Com Orale 2	34	1	MALARD Elise	33	76	4
BOUÉ Antoine	5	48	4	MARTIN Lucie	34	77	4
CAROUGE Elisa (Absente)	6	49	4	MERLIER Margaux	35	78	1
CHERIFI François	Com Orale 3	35	1	MESSAOUDI Sahra	36	79	1
CHOKRY Yasmine	7	50	4	MEYNARD Thomas	37	80	1
COULARDEAU Laura	8	51	4	MOREAU Noémie	38	81	3
COUPEY Julie	9	52	4	MOUSSAOUI Ismail	39	82	1
DEGAND Claire	Com Orale 6	38	2	NAIT ELDJOURI Amina	40	83	1
DIEDRO Mel	10	53	1	NICOLA Celeste	41	84	4
DUIVON Mylène	Com Orale 8	40	4	PAWLAK Geoffrey	42	85	1
ELIA Clara	11	54	4	PEDARD Martin	43	86	4
FELLAH Sandy	12	55	1	PEZERIL Jocelyn	44	87	1
FOURNIER Valentyn	13	56	5	PHAM Thao- Nguyen	45	88	3 & 4
FOURNIER Valentyn	Com Orale 10	42	5	PREVOST Lucie	46	89	4
GALIN Melvin	14	57	4	QUILAN Manon	47	90	1
GHADI Côme	15	58	1	RACINE Floriane	Com Orale 5	37	1
GIRARDI Mélanie	16	59	1	RAFFO-ROMERO Antonella	48	91	1
GOUJON Marine	17	60	1	RAKOTOMALALA Andria	49	92	4
GUERIN Célia (absente)	18	61	1	RODZINSKI Elodie	50	93	1 & 3
GUILLEMOT Sterenn	19	62	1	SCHWALEN Florian	51	94	1
HADJ BACHIR Elsa	20	63	1	STOUP Nicolas	52	95	1
HANOT Mariette	21	64	4	TELLIER Rémi	53	96	1
HOROCHOWSKA Anaïs	22	65	1	TERRASSOUX Lisa	54	97	4
KASPROWICZ Angéline	23	66	1	THOREL Lucie	55	98	1
KLOUYOVO Kekely	24	67	1	TITAH Sofia	56	99	2
LAGUILLAUMIE Marie-Océane	Com Orale 7	39	2	TRINEL Ferdinand	57	100	1
LE GALL Gwenn	25	68	5	Trioën Camille	58	101	1
LECLERC Arthur (Abs Poster Présenté par Levallet Guenaëlle)	26	69	4	VREVIN Julie	59	102	2
LEFEBVRE Anthony	27	70	1	WOESTELAND Flavie	60	103	1
LEMAITRE Thomas	28	71	1	ZIANE CHAUCHE Lydia	61	104	1
LEMERCIER Quentin	Com Orale 9	41	4	ZIANE Laurine (Absente)	62	105	1