

Thématique HPV

1. Les facteurs impliqués dans la carcinogenèse et la progression des lésions HPV-induites (cancer du col de l'utérus, du canal anal et des VADS) sont étudiés au niveau moléculaire et cellulaire par plusieurs équipes de l'axe C, avec les projets en cours suivants :

1.1. Une expertise unique concerne l'étude structurale des oncoprotéines E6 et E7 ainsi que l'étude de leurs interactions multiples (Dr Gilles TRAVE, Dr Murielle MASSON, Alsace). Les études structurales et fonctionnelles portent notamment sur les interactions des protéines E6 avec l'ubiquitine ligase E6AP, la protéine suppresseur de tumeur p53, le facteur de transcription IRF3 de l'immunité innée et différentes protéines à domaines PDZ impliquées dans la polarité et l'adhérence cellulaire. Les études d'interactome consistent à construire des bibliothèques de cibles potentielles (protéines à domaines PDZ, protéines de l'ubiquitination, protéines contenant des motifs "LxxLL" ciblées par E6) et à les cribler avec les oncoprotéines E6 et E7 par des approches innovantes (approche chromatographique "holdup" *in vitro* ; complémentation protéique de la luciférase dans les cellules de mammifère) qui permettent d'identifier les interactions et aussi d'évaluer leur affinité, ce qui fournit un paramètre quantitatif pour classer et/ou prioriser les ligands cellulaires identifiés.

1.2. Une étude de caractérisation moléculaire et cellulaire des carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx induits par HPV est basée sur l'exploitation de données de génomique et de transcriptomique obtenues dans le cadre du programme « Carte d'Identité des Tumeurs » de la Ligue Nationale contre le Cancer. Ces approches visent à identifier les facteurs spécifiquement impliqués dans la progression tumorale et la réponse aux traitements des cancers de l'oropharynx HPV-positifs (Dr Alain JUNG, Alsace). Les principaux objectifs de ces travaux sont la mise à jour de biomarqueurs pronostiques et/ou prédictifs pouvant contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients HPV positifs.

1.3. Le rôle des effecteurs de la voie Hippo, YAP/TAZ, est peu connu actuellement dans les cancers HPV-induits. Une étude-pilote a débuté pour étudier la régulation de YAP et TAZ (études immunohistochimiques) dans trois types de cancers associés à HPV (cancers du col de l'utérus, du canal anal et des VADS) (Projet Emergent CGE 2015, Dr Murielle MASSON, IREBS, Alsace ; Pr Philippe BIREMBAUT, INSERM UMR-S903, Champagne-Ardenne). De plus, une étude plus fondamentale a pour objectif de caractériser les réseaux d'interaction des protéines YAP/TAZ avec les protéines à domaine PDZ et d'analyser les conséquences pour la carcinogenèse (Dr Murielle MASSON, Dr Katia ZANIER, IREBS, Alsace).

1.4. Si les partenaires protéiques de E6 sont relativement bien identifiés, peu de données sont disponibles quant aux modifications épigénétiques du génome viral ou encore à l'épissage alternatif des transcrits qui conduisent à la production de protéines E6 et E7 tronquées (isoformes E6*1, E6*II et E6^E7). Les transcrits épissés pouvant représenter jusqu'à 98% des transcrits viraux dans les cancers du col de l'utérus, nous émettons l'hypothèse que ces régulations jouent des rôles clefs dans la carcinogenèse associée aux HPV HR. L'objectif de notre projet est donc d'étudier les mécanismes qui sous-tendent la régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle des transcrits et des isoformes de E6 et E7 ainsi que leurs fonctions dans deux processus de progression tumorale que sont la réponse à l'hypoxie et la transition épithélio-mésenchymateuse, avec en particulier le rôle de YAP et TAZ (étude REISO-PAP*, Pr Jean-Luc PRETET) soutenue par la Ligue Contre le Cancer (CCIR-GE). De plus, afin de mieux définir les fonctions biologiques individuelles de chaque isoforme E6, nous proposons de réaliser une analyse transcriptomique par RNA-seq des ARN codants et non codants issus de cellules exprimant les isoformes E6FI et/ou E6*1 (Projet Emergent CGE 2016, Dr Aurélie BAGUET, Franche-Comté).

* Les participants au projet REISO-PAP sont : Pr C Mouglin, Pr F Aubin, Dr A Baguet, Dr I Lascombe, Dr S Fauconnet (Franche-Comté), G Travé, M Masson, A Jung (Alsace), V Dalstein, C Clavel, P Birembaut, M Polette (Champagne-Ardenne).

2. La caractérisation des lésions (pré-)cancéreuses associées à HPV est essentielle pour identifier des biomarqueurs théranostiques et proposer de nouvelles stratégies diagnostiques et thérapeutiques.

2.1. La pertinence clinique de biomarqueurs viraux et cellulaires est en cours d'évaluation en termes de survie des patients dans l'étude Papillophar, une des plus importantes études multicentriques menées sur les HPV dans les cancers de l'oropharynx (PHRC nationaux Papillophar 1 et 2, Pr Jean LACAU ST GUILY, APHP et biologistes/pathologistes du CGE). Une désescalade thérapeutique pourrait être proposée chez les patients avec un cancer HPV positif de pronostic favorable afin de diminuer la toxicité des traitements.

2.2. Des études sur la valeur pronostique de combinaison de marqueurs viraux (type d'HPV, charge virale, intégration du génome viral) et cellulaires (expression de p16, Ki67, p53 et p21) sont en cours pour évaluer la survie des patients avec un cancer du canal anal. Les études CAP1 et CAP2 menées sur une cohorte de 85 patients de Franche-Comté a permis de mettre en évidence trois groupes pronostiques de patients avant traitement, grâce à l'utilisation d'une combinaison de la valeur de la charge virale d'HPV16 et des résultats de l'expression de p16 et de p53 par immunohistochimie à partir des biopsies diagnostiques (Pr Séverine VALMARY-DEGANO, Université de Franche-Comté). Nous avons étendu ce travail à l'ensemble de la région Grand-Est (étude CAP3), sur une population de 320 patients avec les radiothérapeutes et pathologistes (CHU/CLCC et du secteur libéral) de Besançon, Dijon, Nancy et Strasbourg.

2.3. L'intégration du génome des HPV au sein de l'ADN cellulaire peut être mise en évidence par peignage moléculaire (étude IDAHO, Genomic Vision, Pr Olivier GRAESSLIN, Champagne-Ardenne). L'objectif principal est d'étudier l'association entre l'intégration des génomes d'HPV à haut risque et la sévérité et/ou l'évolution des lésions cervicales chez des patientes ayant une indication de colposcopie.

2.4. Une caractérisation optimisée des séquences d'ADN d'HPV associées aux carcinomes infiltrants est pertinente pour développer des marqueurs diagnostiques et de suivi (Dr Xavier SASTRE-GARAU, Lorraine). Le projet repose sur deux axes principaux :

1) des développements techniques et notamment l'introduction des approches de séquençage à haut débit pour identifier des séquences d'ADN d'HPV associées aux tumeurs. Cette approche innovante vise à une caractérisation exhaustive des séquences virales et de leur statut physique au sein du génome tumoral, afin d'optimiser l'identification des marqueurs nécessaires au suivi biologique,

2) la détection d'ADN viral circulant, comme marqueur de l'ADN tumoral circulant, dans les cancers associés aux HPV, quelle que soit la localisation (col de l'utérus, vulve, anus, VADS). La valeur clinique du marqueur sérique pour le diagnostic primaire, pour le diagnostic des rechutes et pour le suivi thérapeutique sera évaluée par des études prospectives.

Un projet inter-régional, coordonné par les Dr Xavier SASTRE-GARAU, Dr Alexandre HARLE, Dr Agnès LEROUX (Institut de Cancérologie de Lorraine, Nancy), est prévu pour réaliser une analyse longitudinale de l'ADN viral plasmatique chez des patients traités et suivis pour un cancer HPV positif. L'objectif principal de ce projet sera de montrer que la rechute biologique (réapparition de séquences d'ADN d'HPV plasmatique au cours du suivi) précède la rechute clinique.

Parallèlement, plusieurs projets collaboratifs ont été initiés pour valider l'analyse de l'ADN viral plasmatique par séquençage haut débit dans différentes pathologies. Ces projets associent les équipes cliniques de l'ICL, le CHU Aristide Le Dantec de Dakar, l'INCa et le CERBA. Le développement de partenariats à l'échelle régionale sur ces thématiques sera favorisé.

3. Les stratégies de prévention primaire et secondaire des cancers associés aux HPV évoluent avec les avancées technologiques. Il est essentiel de mener des études translationnelles avant leur transfert à la clinique.

3.1. Le dépistage du cancer du col de l'utérus se fait actuellement par frottis cervico-utérin avec un examen cyto-pathologique La détection d'HPV oncogènes (dits à haut risque, HPV 16, 18, 33...) en première intention est une alternative au dépistage classique et représente une nouvelle approche plus sensible et spécifique quand elle est combinée au « triage » des femmes HPV positives par cytologie (étude INCa, START-HPV, Pr Christine CLAVEL, Dr Véronique DALSTEIN, Dr Elisabeth ROUSSELOT MARCHE, Champagne-Ardenne, premier programme visant à étudier la faisabilité d'un dépistage primaire par test HPV des lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin ; période 2011-2016). L'aspect sociologique du dépistage est un autre challenge et persuader les individus de la nécessité de réaliser les examens de dépistage représente un enjeu de santé publique. Nous avons développé de nouvelles approches de « marketing social » avec une équipe de NEOMA Business School de Reims (Pr Adilson BORGES, Behavioral Science Group, NEOMA Champagne-Ardenne) pour comprendre les freins au dépistage et mieux sensibiliser et mobiliser les femmes pour ce dépistage.

3.2. En parallèle, la **vaccination prophylactique** contre les HPV à haut risque reste un enjeu important dans la prévention des lésions HPV induites. Actuellement, en France, cette vaccination n'est pas organisée et intéresse une population de jeunes filles trop réduite. Son intérêt sur des femmes plus âgées reste à définir et des participants du CGE se sont ainsi impliqués dans le programme européen CoheaHr (*Comparing health services interventions for the prevention of HPV-related cancer*, 7^{ème} PCRD - Johannes Berkhof, VU University Medical Center, Amsterdam). Nous participons au *workpackage* sur la vaccination chez les femmes de 25 à 45 ans, au sein d'un consortium européen de 12 pays (WP4). Le but est d'évaluer l'acceptabilité et les déterminants de la compliance des femmes de 25 à 45 ans, via un questionnaire à remplir et/ou la proposition d'une vaccination anti-HPV (étude FP7 CoheaHr, Pr Olivier GRAESSLIN / Pr Christine CLAVEL, Champagne Ardenne, 2013-2018).

3.3. L'étude SPLIT en cours ([INCa PAIR-VADS, 2012-2016, collaboration entre Dr Silvia FRANCESCHI / IARC Lyon, Pr Jean LACAU ST GUILY / AP-HP Tenon et Pr Christine CLAVEL, Champagne-Ardenne](#)), a pour objet la faisabilité du dépistage des lésions précancéreuses oro-pharyngées par frottis amygdalien. Les premières données montrent que la prévalence d'ADN d'HPV dans le tissu amygdalien est faible et que le dépistage cytologique par frottis n'est pas adapté pour détecter des lésions précancéreuses (sur des prélèvements amygdaliens du jeune enfant à l'adulte jeune).

Un réseau de biologistes spécialistes des infections à HPV (CHU de Besançon, Paris-Tenon, Poitiers, Reims et CLCC Paul Strauss) et un réseau national de services hospitalo-universitaires d'ORL et de chirurgie maxillo-faciale ont permis de recruter les patients inclus dans les études SPLIT et Papillophar.

3.4. Une étude épidémiologique HPV au niveau du canal anal ([Dr Lucine VUITTON, Université de Franche-Comté](#)) cible une population européenne non sélectionnée par ses habitudes sexuelles ou son statut vis-à-vis du VIH, HPV positive au niveau anal, avec des facteurs de risque gastroentérologiques et proctologiques connus. L'objectif principal est d'établir la prévalence de l'infection à HPV et la distribution des génotypes d'HPV dans le canal anal, ainsi que leur répartition par âge et par sexe des patients bénéficiant d'une coloscopie. Les objectifs secondaires sont d'étudier (1) l'association HPV et lésions anales (frottis anal) ; (2) l'association HPV et facteurs d'irritation locale (pathologie proctologique, diarrhée chronique) et l'association HPV et prise de traitements immunosuppresseurs chez des patients avec MICI (Maladie inflammatoire chronique de l'intestin) ou sans MICI. Cette étude permettra d'évaluer l'intérêt des stratégies préventives et curatives des affections de la muqueuse anale liées à l'HPV.

Thématique HCV

Les traitements contre le carcinome hépatocellulaire (CHC) à HCV sont insuffisants. En utilisant l'HCV comme modèle, nous nous efforçons d'identifier des mécanismes de la carcinogenèse hépatique conduisant à une altération du « régulatome cellulaire » et de la stabilité génétique des hépatocytes suite à l'infection virale ; ces mécanismes pouvant être similaires à ceux induits par d'autres facteurs étiologiques du CHC.

Nous utilisons des modèles de cellules HCV infectées, *in vitro* et *in vivo*, des modèles de souris humanisées et du tissu hépatique de patients. Notre équipe analyse les changements cellulaires lors de l'infection virale au niveau du transcriptome, du protéome, du métabolome et étudie la régulation épigénétique, tant dans des populations cellulaires qu'au niveau de la cellule unique.

Le principal objectif de l'unité Inserm U1110 est de développer des stratégies chimiopréventives pour contrecarrer la progression des atteintes hépatiques vers le CHC chez les patients à haut risque.

Cet axe de recherche est dirigé par [Thomas BAUMERT](#) avec les chercheurs [Mirjam ZEISEL](#), [Joachim LUPBERGER](#) et [Catherine SCHUSTER](#), en collaboration avec l'Institut Broad du MIT et de Harvard, Cambridge, MA, USA et la Faculté de Médecine Icahn de l'hôpital Mount Sinai, NY, USA.

La recherche est financée par l'ARC, Paris et l'Institut Hospitalo-Universitaire de Strasbourg (TheraHCC IHUARC IHU201301187), l'Union européenne (INTERREG-IV-Rhin Supérieur-FEDER-Hepato-Regio-Net, ERC-AdG-HEPCIR, H2020 HEPCAR), l'ANRS, Paris et le NIH. Cette recherche est menée dans le cadre du LABEX ANR-10-LabX-0028_HEPSYS et bénéficie d'un financement de l'Etat géré par l'Agence Nationale de la Recherche française dans le cadre du Programme Investissements d'Avenir.