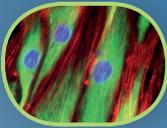


Le 17 octobre 2008
au Palais des Congrès à Vittel

2^e Forum du Cancéropôle du Grand-Est

- Par-delà les frontières territoriales et de la recherche
- Mobilisation inter-régionale et transfrontalière



Renseignements / inscriptions :

<http://www.canceropole-ge.org/forum>

+33 (0)3 88 12 84 19

dominique.marilley@canceropole-ge.org

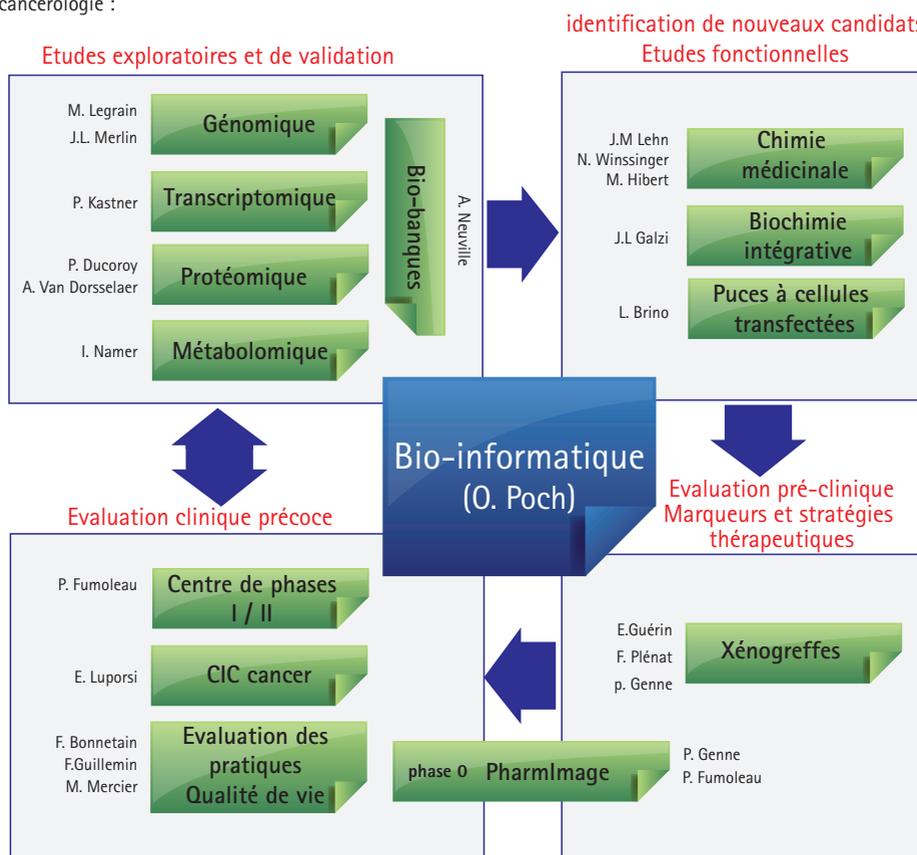
Transformer la science en thérapies sur le Grand-Est

L'émergence et la promotion de projets de recherche clinique pilotés par des cliniciens intégrant de la recherche translationnelle et des expertises en recherche fondamentale sont un élément-clé de la stratégie 2007-2010 du CGE, qui se base sur le comité de cliniciens (COCLIN)

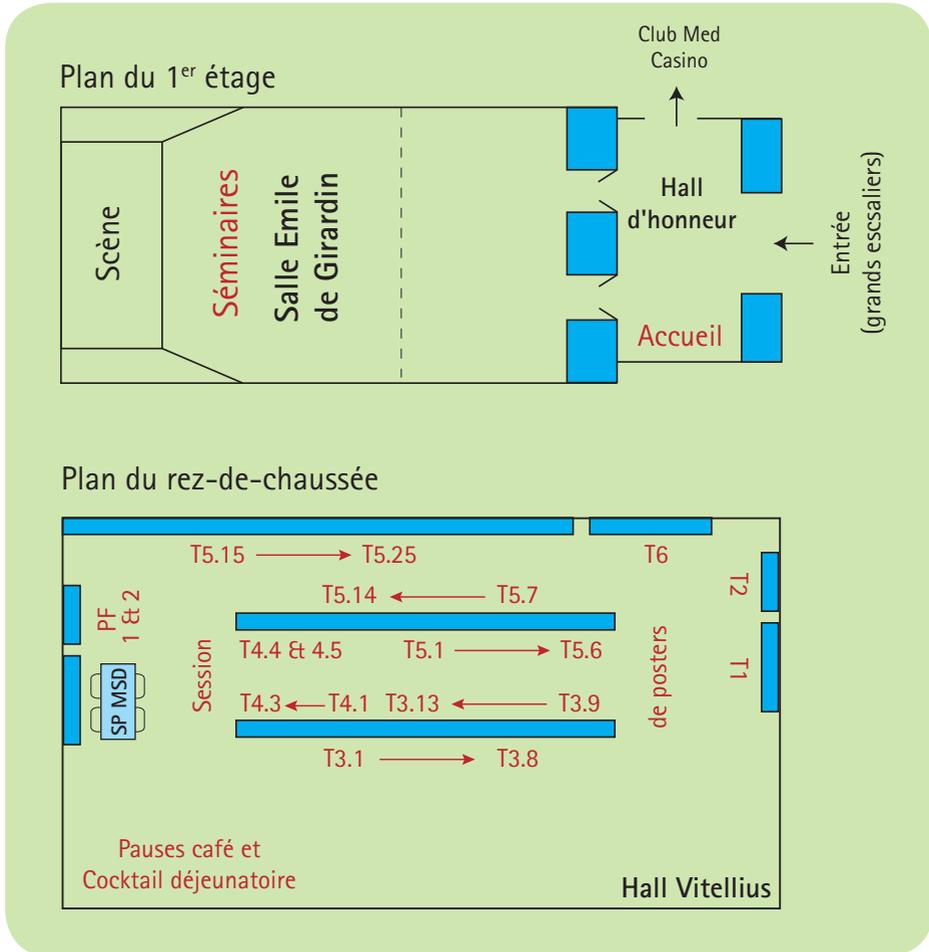
La démarche consiste à :

- recenser les études cliniques émergentes de phase I ou II précoce au sein de chaque région
- augmenter le taux d'inclusion de patients en intégrant des centres et établissements hospitaliers d'autres régions du Grand-Est
- combiner les études cliniques à de la recherche translationnelle en faisant appel à des plateformes technologiques et/ou hospitalières du Grand-Est
- les faire évaluer par des pairs et sélectionner les plus prometteuses d'entre elles
- les promouvoir auprès des instances financeurs (Etat, associations caritatives, collectivités territoriales, etc...)

Cette dynamique peut s'appuyer sur un réseau de plateformes couvrant la totalité de la chaîne de valeur en cancérologie :



Plan de la manifestation



WiFi Les halls et salles du Palais des Congrès sont équipés du système WIFI

Contacts



Dominique MARILLEY
Tél. : +33 (0)6 77 27 65 48



Marie-Paule DIDELOT
Tél. : +33 (0)3 29 08 18 30

Editorial

Pierre OUDET – Coordonnateur scientifique

Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire du CHU de Strasbourg, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire à Illkirch

Le Cancéropôle du Grand-Est (CGE) a été lancé en 2003. En 5 ans, 71 projets de recherche pilotés par des acteurs du Grand-Est ont été financés par l'Institut National du Cancer (INCa) pour un montant de plus de 15 millions d'euros et 12 bourses doctorales et 8 post-doctorales attribuées. Plusieurs projets rayonnent au-delà du Grand-Est puisque 38 équipes françaises et européennes sont partenaires dans au moins un projet. Je citerais trois réseaux structurants pour lesquels 2008 représente une étape importante :

- Le programme conjoint CGE-DKFZ (Centre Allemand de Recherche contre le Cancer, Heidelberg) sur la Virologie Tumorale Appliquée regroupant du côté français des expertises alsaciennes, champenoises et franc-comtoises. Les travaux à 3 ans, ainsi qu'une proposition d'extension de 2 ans, vont être présentés le 25 novembre prochain devant un comité d'experts international
- Un projet d'épidémiologie du cancer du foie, porté par Dijon, réunissant plus de 70 chercheurs, cliniciens et épidémiologistes du Grand-Est a démarré en 2007. Il s'agit d'une étude cas-témoins qui inclura à terme 1200 patients souffrant d'une cirrhose afin de découvrir les facteurs de déclenchement du cancer du foie
- Un projet de protéomique clinique impliquant 2 start-up du Grand-Est arrive à son terme. Il a conduit à la constitution d'une banque de xénogreffes du cancer du colon humain afin d'étudier le protéome tissulaire. Ces modèles, hétérologues, permettent de différencier les compartiments stromal et tumoral. Ce réseau a également contribué à la découverte d'un nouveau concept d'infidélité de transcription amplifiée dans les cancers et sur des motifs prédictibles.

Depuis 2007, le CGE s'attache à réaliser un défi majeur : mobiliser forces et ressources afin d'allier innovation et pratique clinique. Une dynamique a ainsi démarré se basant sur les travaux du Comité de Cliniciens (COCLIN) représentatif des expertises des 5 régions du Grand-Est. La stratégie mise en place vise à :

- Favoriser le transfert entre recherche fondamentale et clinique en réalisant des projets s'appuyant sur des plateformes technologiques et hospitalières du Grand-Est
- Contribuer à augmenter le taux d'inclusion de malades en soutenant la réalisation de protocoles de phase I et II précoce
- Favoriser le soutien de protocoles de recherche clinique nationaux donnant une visibilité aux équipes du Grand-Est

Le Cancéropôle du Grand-Est (CGE) organise le 17 octobre 2008 à Vittel la 2^e édition de son Forum. Au cours de cette journée, l'accent sera mis sur des thèmes fédérateurs du CGE :

- Epidémiologie et sciences humaines et sociales
- Des virus et des cancers
- Contrôle local des cancers et prévention de l'invasion : nouveaux outils et cibles
- Quelle recherche clinique au sein du CGE ?

Les interventions seront complétées par une session d'une cinquantaine de posters qui exposeront les travaux réalisés dans les domaines suivants :

- Qualité de vie et évaluation des pratiques
- Biomarqueurs et imagerie
- Radiothérapie et Thérapie Photodynamique
- Nouvelles cibles, nouvelles molécules
- Immunothérapie

Le 2^e Forum représente ainsi une opportunité d'échanger sur son expertise et ses besoins, de faire émerger des projets de recherche collaboratifs pluridisciplinaires, c'est-à-dire travailler ensemble pour transformer une découverte dans le laboratoire en pratique clinique.

Sommaire

Programme du 1er Forum du Cancéropôle du Grand-Est	6
Résumés des interventions.....	8
Epidémiologie et Sciences Humaines et Sociales.....	8
Des virus et des cancers.....	10
Contrôle local des cancers et prévention de l'invasion : nouveaux outils et cibles.....	12
Résumés des communications affichées.....	16
Thème 1 : Qualité de Vie.....	16
Thème 2 : Evaluation des pratiques.....	18
Thème 3 : Biomarqueurs et Imagerie.....	19
Thème 4 : Radiothérapie et Thérapie Photodynamique	24
Thème 5 : Nouvelles cibles – Nouvelles molécules	26
Thème 6 : Immunothérapie	36
Les plateformes.....	38
Index.....	39

Programme

7h45–8h30 : Accueil des participants / affichage des posters

8h30–8h40 : Adrien ZELLER, Président de la Région Alsace et du Cancéropôle du Grand-Est

8h40–9h10 : Une nouvelle étape de la recherche contre le cancer ?

Pierre OUDET, Coordonnateur scientifique du Cancéropôle du Grand-Est (CGE)

Sophie LE RICOUSSE, Responsable du Dpt de Biologie du Cancer, Institut National du Cancer (INCa)

Epidémiologie et Sciences Humaines et Sociales

Modérateur : Francis GUILLEMIN, Centre d'Epidémiologie Clinique, CIC-EC INSERM, CHU Nancy

9h10–10h10 :

- La plateforme Epidémiologie du CGE : état des lieux et prospective

Jean FAIVRE, Inserm U866, Lipides-Nutrition-Cancer, Registre bourguignon des cancers digestifs, Dijon

- Mise en place d'une plateforme dédiée à la qualité de vie relative à la santé en cancérologie
Franck BONNETAIN – Centre Georges-François Leclerc, Dijon

- La Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (FFCD), groupe académique national spécialisé en cancérologie digestive – Laurent BEDENNE, Inserm EMI 0106, CHU Dijon

10h10–10h40 : Pause café – Session de posters et Espace Biopharma (Sanofi–Pasteur MSD)

10h40–11h20 :

- Analyse descriptive de l'incidence des cancers thyroïdiens de 1975 à 2004 dans les départements de la Marne et des Ardennes

Claire SCHVARTZ, Registre des cancers thyroïdiens, Institut Jean Godinot, Reims

- Vécu psychologique des patients atteints d'un cancer de la prostate

Ludivine BISSLER, Laboratoire de Psychopathologie et de Psychologie Médicale, Université de Bourgogne, Dijon

Des virus et des cancers

Modérateur : Thomas BAUMERT, Inserm U748, Institut de Virologie et CHU Strasbourg

11h20–12h20 :

- RC** • Evaluation de la détection des ARNm E6/E7 dans la prise en charge des patientes présentant un frottis du col de l'utérus normal et un test ADN HPV positif

Véronique DALSTEIN, Laboratoire Pol Bouin, CHU / INSERM UMRS-903, Reims

- RT** • Caractéristiques des tumeurs des voies aérodigestives supérieures (VADS) infectées par le Virus du Papillome Humain (HPV)

Alain JUNG, Laboratoire de Biologie Tumorale, Centre Paul Strauss, Strasbourg

- RF** • Identification de nouvelles stratégies antivirales ciblant l'entrée du virus de l'hépatite C par criblage RNAi fonctionnels pour la prévention du carcinome hépatocellulaire

Joachim LUPBERGER, Inserm U748, Laboratoire de Virologie, Strasbourg

12h30–14h00 :

Cocktail déjeunatoire – Session de posters et Espace Biopharma (Sanofi–Pasteur MSD)

Contrôle local des cancers et prévention de l'invasion : nouveaux outils et cibles (1)

Modérateur : Jean-Louis MERLIN, Centre Alexis Vautrin, Nancy

14h00-15h00 :

- RT** • PHARMIMAGE® : le pôle de recherche pluridisciplinaire dédié à l'évaluation pharmacologique des traitements par l'imagerie in vivo
Cyril BERTHET, Oncodesign, Dijon
- RC** • Utilisation du morphing pour la simulation des mouvements du poumon
Julien HENRIET, équipe IRMA, Département ENISYS, Institut FEMTO-ST, Besançon
- RT** • Intérêt de l'étude des niveaux d'expression des phosphoprotéines de signalisation en aval de l'EGFR dans la prédiction de réponse au cetuximab des cancers colorectaux non porteurs de la mutation Kras
Jean-Louis MERLIN, Unité de Biologie des Tumeurs, Centre Alexis Vautrin, Nancy

Contrôle local des cancers et prévention de l'invasion : nouveaux outils et cibles (2)

Modérateur : Joseph ABECASSIS, Centre Paul Straus, Strasbourg

15h00-16h20 :

- RF** • L'intégrine $\beta 5 \beta 1$: une cible thérapeutique et un nouvel acteur de la résistance des glioblastomes à la chimiothérapie
Monique DONTENWILL, CNRS UMR7175, Dpt de Pharmacologie de la Faculté de Pharmacie, Strasbourg
- RF** • Rôle d'une molécule de la matrice extracellulaire, la Tenascine-C, dans la progression tumorale
Gertraud OREND – Inserm U682, Développement et physiopathologie de l'intestin et du pancréas, Strasbourg
- RF** • LRP-1 : un nouveau modulateur de la dynamique du cytosquelette et du turnover du complexe d'adhésion dans les cellules cancéreuses
Stéphane DEDIEU, CNRS UMR 6237, MEDyC, Laboratoire SIRMA (Signalisation et Récepteurs Matriciels), Reims
- RF** • Prévention de récurrences de tumeurs vésicales par la thérapie photodynamique après résection transurétrale dirigée par endoscopie de fluorescence
Saoussen BERRAHMOUNE, Equipe Photobiologie en Cancérologie, CRAN Nancy Université, CNRS, Centre Alexis Vautrin

Quelle recherche clinique au sein du CGE : le Comité de Cliniciens (COCLIN)

16h20-16h50 :

Pierre FUMOLEAU, Centre Georges-François Leclerc, Dijon

Objectifs – Mobilisation – Emergence – Plateformes de recherche et hospitalières

16h50-17h00 : Clôture – Pierre OUDET – Coordonnateur scientifique du CGE

17h00-17h30 : Pause café

17h30-19h30 : Réunion du Comité de Cliniciens du CGE – Animateur : Pierre FUMOLEAU

RC Recherche clinique

RF Recherche fondamentale

RT Recherche translationnelle

Résumés des interventions

Session

Epidémiologie et Sciences Humaines et Sociales

Mise en place d'une plateforme dédiée à la qualité de vie relative à la santé en cancérologie

RC

Auteur : Bonnetain Franck

Coordonnées : CGFL, Dijon

E-mail : FBonnetain@dijon.fnclcc.fr

Tél. : +33 3 80 73 77 84

Résumé : La plateforme a pour objectif de :

- 1 Mutualiser les compétences et les thématiques de recherche des spécialistes de la QdV du CGE
- 2 Développer et proposer un service commun auprès des cliniciens du CGE pour mesurer la QdV dans le cadre d'essais cliniques (Phase II III et IV) ou d'études épidémiologiques.
- 3 Créer une base d'outils de mesure de QdV et de santé perçue.
- 4 Développer une recherche méthodologique de « transfert » dans le cadre d'études cliniques et d'études épidémiologiques.
- 5 Elaborer et mener des études méthodologiques de qualité de vie dans le cadre d'études dédiées

En outre d'ici deux ans et en ayant fait preuve de son utilité et de son efficacité, cette plate-forme devra

- Proposer ces services et développer des collaborations avec les autres Cancérologues.
- Développer des collaborations avec des associations de malades ou visant à aider les malades

Le comité de cliniciens du CGE, favorisant la mise en place d'essai de phase II au sein du CGE, soutient et sollicite l'expertise et les services de la plateforme. A ce jour un dizaine d'essai de phase II du CGE et de la FFCD ont sollicité l'expertise de cette plateforme de QdV et ceux-ci ont été intégrés dans des projets de recherche méthodologique ancillaire sur la QdV.

Présentation de la Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (FFCD), groupe académique national spécialisé en cancérologie digestive

RC

Auteur : Bedenne Laurent

Coordonnées : FFCD, Dijon

E-mail : lbedenne@u-bourgogne.fr

Tél. : 03 80 66 80 13

Résumé : La FFCD est une structure académique labellisée comme Centre de Traitement de Données (CTD) par l'INCA.

La FFCD conduit des essais cliniques multicentriques de phase II et III en cancérologie digestive, impliquant tout le système de

santé français, CHU, centres hospitaliers, centres anti-cancéreux, cliniques privées. Les essais sont conçus par les sous-groupes thématiques de la FFCD et validés par son conseil scientifique. Tous les essais sont coordonnés par le Centre de Randomisation-Gestion- Analyse de la FFCD, de l'élaboration du protocole jusqu'à la publication finale en assurant le réglementaire, le data management, le monitoring des études, la pharmacovigilance, les analyses statistiques et la discussion des résultats avec les coordonnateurs.

Les buts principaux de la FFCD sont :

- Faire participer à la RC les médecins exerçant en dehors des centres spécialisés. En 2007, 67% des investigateurs actifs exerçaient en CHG ou en privé, et représentaient 40% des inclusions dans les essais. La participation des structures petites et moyennes est une des caractéristiques de la FFCD :
 - la RC au sein d'un réseau national améliore leur expertise
 - 40% des inclusions venant des CHG et du privé atténue le biais de sélection des essais menés par des centres ultra-spécialisés.
- Couvrir le champ de la cancérologie digestive, y compris les tumeurs rares ou délaissées.
- Mener des essais chez les personnes âgées, presque toujours exclues des études
- Privilégier les études de stratégies thérapeutiques
- Mettre un accent particulier sur l'évaluation de la qualité de la vie
- Développer la recherche biologique de transfert. Ces recherches permettront d'optimiser la thérapeutique si des relations sont établies entre caractéristiques biologiques et sensibilité à certains traitements.
- Développer la coopération nationale (ANGH, FNCLCC, FRENCH, GERCOR, ...) et internationale (AIO, BGDO, EORTC, GISCAD, TTD,...) pour tous les essais stratégiques qui nécessitent un nombre de patients importants. La FFCD est membre fondateur du PETACC (Pan European Trials in Alimentary TraCt Cancer) qui réunit 18 groupes nationaux européens. La FFCD a participé aux essais PETACC 1 et 2, a été le groupe leader de l'essai PETACC 4, et est depuis 2005 le promoteur international de l'essai PETACC 8.

Analyse descriptive de l'incidence des cancers thyroïdiens de 1975 à 2004 dans les départements de la Marne et des Ardennes.

RC

Auteur : SCHVARTZ Claire

Coordonnées : Institut Jean Godinot, Reims

E-mail : claire.schvartz@reims.fnclcc.fr

Tél. : 03 26 50 43 20

Résumé : Le registre de Marne Ardennes est le seul registre spécialisé pour les cancers thyroïdiens qualifié par le Comité National des Registres. Il assure un recueil exhaustif depuis 1975 de tous les cas de cancers thyroïdiens domiciliés, au moment du diagnostic, dans la Marne ou dans les Ardennes (population de 850 000 habitants). Ce registre a la particularité de recueillir des données précises caractérisant le cancer et sa prise en charge. Ces informations permettent de surveiller l'évolution de ces cancers dans le temps en fonction de différentes caractéristiques : sexe, âge, stade du cancer, type histologique... Les analyses ont été réalisées par l'INVS. Elles ont concernées six périodes quinquennales allant de 1975-1979 à 2000-2004.

Le taux d'incidence standardisé à la population mondiale est passé chez les hommes dans la 1^o période 1975-1979 de 0,9 pour 100 000 à 4,7 pour 100 000 dans la dernière période 2000-2004, chez les femmes de 3,9 pour 100 000 à 14 pour 100 000. L'âge moyen a augmenté chez les femmes passant de 46 ans à 50 ans . Au contraire chez les hommes il est passé de 55 ans à 51 ans. Le sexe ratio (rapport homme/femme) est passé de 0,23 à 0,34. Les cancers de petite taille < 5 mm ont considérablement augmenté en 30 ans passant de 7,4% des cas en 1975-1979 à 25% des cas en 2000-2004. Les cancers papillaires représentaient 45% des cas dans la 1^o période, 80% dans la dernière. Enfin en 1990-1994, 25% des cancers étaient de découverte fortuite lors de l'examen histologique, en 2000-2004, 38% des cancers sont de découverte fortuite et parmi eux 64% ont une taille < 5mm.

Cette analyse confirme l'augmentation importante des cancers thyroïdiens de 1975 à 2004 et surtout des cancers de petite taille et de découverte fortuite, probablement du fait des modifications des pratiques médicales (chirurgicales et anatomopathologiques). L'évolution des classifications histologiques contribue à l'augmentation des cancers papillaires aux dépens des cancers vésiculaires.

Vécu psychologique des patients atteints d'un cancer de la prostate

RC

Auteur : Bissler Ludivine, Chahraoui Khadija

Coordonnées : Laboratoire de Psychopathologie et de Psychologie Médicale - Université de Bourgogne, Dijon

E-mail : ludivine_bissler@hotmail.com

Tél. : 06 20 51 28 12

Résumé : Dépisté précocement et à un stade localisé, le cancer de la prostate a souvent un pronostic favorable. Cela étant, l'impact psychologique ne dépend pas de la gravité du cancer et les effets secondaires des traitements peuvent altérer la qualité de vie de ces hommes.

Ainsi, l'objectif de notre doctorat est de mesurer l'impact de certaines variables psychologiques et psychosociales sur leur vécu psychologique et leur qualité de vie.

Nous nous intéressons aux patients ayant un cancer primitif et localisé de la prostate, traités par radiothérapie, avec ou sans hormonothérapie. A partir d'entretiens et de questionnaires, nous étudions les styles défensifs, la prévalence des troubles anxieux et dépressifs, le soutien social, les relations conjugales et la communication ainsi que la qualité de vie. Nous rencontrons ces hommes avant le début de la radiothérapie et à la première consultation post-traitement.

Nos résultats préliminaires indiquent que 12 patients sur 31 (soit plus d'1/3) présentent des troubles de l'adaptation et qu'ils utilisent plus de défenses peu adaptatives que les sujets sans trouble. De plus, ces patients sont moins satisfaits des soutiens informatif et émotionnel des professionnels de santé. Enfin, plus les patients présentent un trouble de l'adaptation moins ils sont satisfaits de leur relation conjugale, d'une part, et plus il leur est pénible de communiquer avec leur conjointe sur leur cancer d'autre part.

A ce jour, il nous semble intéressant d'investiguer davantage les défenses des patients de manière à pouvoir identifier des facteurs de vulnérabilité quant au développement de difficultés psychologiques. Les résultats sur le soutien social nous ouvrent des pistes de réflexion pour penser la prise en charge médicale de ces patients en lien avec le dispositif d'annonce du Plan Cancer. Enfin, il paraît nécessaire de pouvoir proposer une prise en charge psychologique individuelle mais aussi de couple aux patients présentant des troubles de l'adaptation.

Session

Des virus et des cancers

Evaluation de la détection des ARNm E6/E7 dans la prise en charge des patientes présentant un frottis du col utérin normal et un test ADN HPV positif.

RC

Auteur : Dalstein Véronique

Coordonnées : CHU Reims, Laboratoire Pol Bouin, INSERM, IMRS 903, Université de Reims Champagne-Ardenne, UFR Médecine, Reims

Résumé : Le cancer et les lésions précancéreuses (CIN2/3) du col utérin sont dus à une infection persistante par les papillomavirus à haut risque (HPV-HR). Depuis l'établissement de ce lien causal, les algorithmes de dépistage du cancer du col tendent à combiner l'examen cytologique et la recherche de l'ADN HPV-HR, afin d'améliorer la sensibilité du dépistage. Les gynécologues sont donc de plus en plus souvent confrontés à la prise en charge de patientes présentant un frottis normal et un test HPV-HR positif. Il est également admis que les oncogènes viraux E6/E7 des HPV sont responsables du processus de carcinogenèse médié par les HPV-HR. Ainsi, la détection des ARNm E6/E7 des HPV apparaît comme un biomarqueur intéressant dans ce groupe de patientes, pour identifier celles qui sont les plus à risque d'évoluer vers une lésion précancéreuse du col utérin. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'intérêt de la détection des ARNm E6/E7 dans la prise en charge des femmes avec une cytologie normale et un test ADN HPV-HR positif.

Parmi les patientes incluses dans l'étude prospective « Reims HPV Cohort Study », 124 patientes ont été sélectionnées sur les critères suivants : prélèvement effectué entre avril 2006 et juin 2007, cytologie normale, test Hybrid Capture 2 pour les HPV-HR positif, existence d'un culot cellulaire congelé à -80°C provenant d'un prélèvement effectué avec le dispositif ThinPrep, au moins une visite de suivi connue. Pour toutes les patientes, les extraits ADN sont disponibles et les génotypes HPV présents seront identifiés. L'ARN sera extrait à partir des culots cellulaires congelés et analysés avec la trousse Easy-Q Nuclisens HPV, qui permet la détection des ARNm E6/E7 des HPV 16, 18, 31, 33, 45.

Les données de suivi permettront d'établir si l'infection à HPV-HR est persistante ou transitoire, et d'analyser l'intérêt clinique des méthodes basées sur la recherche d'ARN dans la prise en charge des patientes présentant une cytologie normale et une infection à HPV-HR. L'analyse complète des données sera présentée.

Caractéristiques des Tumeurs des Voies Aérodigestives Supérieures (VADS) infectées par le Virus du Papillome Humain (HPV)

RT

Auteur : Jung Alain

Coordonnées : Centre Paul Strauss, Strasbourg

E-mail : ajung@strasbourg.fnclcc.fr

Tél. : 03 88 25 23 76

Résumé :

Contexte :

L'infection des tumeurs des voies aérodigestives supérieures (VADS) par le virus du papillome humain (HPV) concerne environ 20-25% des cancers épidermoïdes de la sphère ORL.

Méthode :

Nous avons réalisé une étude des caractéristiques histo-cliniques d'une cohorte de 231 patients atteints d'un cancer des VADS, en analysant les résultats en fonction de leur statut HPV. Dans le cadre du programme Carte d'Identité des Tumeurs (CIT) de la Ligue Nationale contre le Cancer, une analyse des profils transcriptionnels et génomiques de 90 tumeurs a été réalisée et un groupe de gènes caractéristiques, notamment de l'infection par HPV, a été validé par qRT-PCR.

Résultats :

La présence d'HPV est observée dans 13% des tumeurs VADS et concerne essentiellement HPV 16. Les tumeurs infectées par un virus transcriptionnellement actif, caractérisées par la présence d'ADN viral et des transcrits viraux E6 et E7 (HPV ADN+/ARN+), ont un meilleur pronostic que les patients infectés et sans transcription des oncogènes viraux (HPV ADN+/ARN-). Les tumeurs HPV ADN+/ARN+ ont un transcriptome distinct et des aberrations chromosomiques spécifiques (pas de perte en 3p et 9p, pas de gain en 11q13). De plus, la perte du locus 16q est un nouvel événement génomique caractéristique, associé à la baisse de l'expression d'un groupe de gène localisé en 16q22-24. L'un de ces gènes code APPBP1 (Amyloid Precursor Protein Binding Protein1), qui est la sous unité régulatrice d'une ubiquitine-ligase de type E1.

Discussion :

L'analyse des données histo-cliniques de la cohorte étudiée, démontre que les patients porteurs de tumeurs des VADS infectées par HPV bénéficient d'une meilleure survie. Néanmoins, cette caractéristique semble dépendre de l'expression des transcrits E6/E7. La perte de l'expression du gène APPBP1, connu pour être impliqué dans la modulation de l'activité transcriptionnelle de p53 par neddylation, est susceptible de jouer un rôle putatif dans la radiosensibilité régulièrement décrite comme étant accrue dans les lésions tumorales infectées par HPV.

Identification of novel antiviral strategies targeting hepatitis C virus entry using functional siRNA screens for the prevention of hepatocellular carcinoma

RF

Auteur : Lupberger Joachim

Coordonnées : Inserm U748, Strasbourg

E-mail : joachim.lupberger@viro-ulp.u-strasbg.fr

Tél. : +33 3 902 43738

Résumé : Hepatitis C virus (HCV) infection is a major cause of hepatocellular carcinoma (HCC). Current treatment options for HCV-induced liver disease and hepatocellular carcinoma are limited by high costs and resistance in large fraction of treated patients. Since HCV entry is the first step of virus-host interactions it represents a promising target for antiviral therapies. Although several co-factors for HCV entry have been identified, the non permissiveness of cell lines expressing all identified co-factors suggest that other entry factors remain to be discovered. Recently, cellular kinase signaling networks have been shown to play a crucial role for infection with other pathogens.

Aiming to identify cellular kinases with a specific impact on HCV entry, we established a functional high throughput siRNA kinase screen using the retroviral HCV pseudoparticle (HCVpp) system. Using a siRNA kinase screen targeting 691 cellular kinases, we identified a set of host kinases exhibiting a significant and specific impact on HCVpp entry without affecting the entry of a non-related control virus (VSV). Interestingly, the identified candidates included five protein kinases representing potential targets for established drugs. Among the identified kinases was receptor tyrosine kinase EphA2. EphA2 has recently been shown to modulate the function of members of the claudin family. Analysis of EphA2 expression by flow cytometry confirmed expression of EphA2 on the cell surface of HCV target cells including primary human hepatocytes. Silencing of EphA2 expression in Huh7.5 cells as well as inhibition of EphA2 function by a tyrosine kinase inhibitor resulted in a marked inhibition of HCVpp entry and HCVcc infection. In conclusion, our results identify receptor tyrosine kinase EphA2 as a co-factor for HCV entry. Furthermore, our results demonstrate that host cell kinases play an important role in HCV entry and may represent a target for novel antiviral therapies to prevent HCV-induced HCC.

Session

Contrôle local des cancers et prévention de l'invasion : nouveaux outils et cibles

Pharmimaging : le pôle de recherche pluridisciplinaire dédié à l'évaluation pharmacologique des traitements par l'imagerie in vivo.

RT

Auteur : Berthet Cyril

Coordonnées : Oncodesign, Dijon

E-mail : cberthet@oncodesign.com

Tél. : 03 80 78 82 60

Résumé : L'imagerie médicale est une technologie stratégique pour accélérer le développement de nouvelles thérapies. Associée à la pharmacologie, l'imagerie a un impact majeur dans la phase de transition entre l'homme et l'animal. Oncodesign est un des leaders mondiaux des études précliniques des nouvelles thérapies anticancéreuses et a développé des compétences internes sur l'imagerie du petit animal. Cette société a fédéré autour d'elle des partenaires publics et industriels pour créer, à Dijon (France), le pôle de recherche pluridisciplinaire PHARMIMAGING. Ce pôle est dédié à l'évaluation pharmacologique des traitements par l'imagerie in vivo. L'expertise scientifique de PHARMIMAGING est transversale regroupant la recherche, la préclinique et les applications cliniques. Elle s'appuie en amont sur des équipes de recherche reconnues internationalement en radiochimie (ICMUB, CheMatech), en nanomatériaux (ICB), en traitement du signal (LE2I) et dans les systèmes de partage de connaissances (CCIT). Elles sont complémentaires de la plateforme de pharmacologie préclinique d'Oncodesign et du centre d'études de phases cliniques I/IIb (Centre de lutte contre le cancer Georges François Leclerc, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon). Le savoir-faire original de ce pôle pluridisciplinaire est orienté vers le transfert technologique pour la mise au point de traceurs, la détermination de biomarqueurs capables de permettre le diagnostic des pathologies, le suivi de l'efficacité des traitements, et la sélection de molécules plus actives.

Par son positionnement unique, ce pôle offrira à ses partenaires industriels un avantage compétitif dans le domaine des traceurs et biomarqueurs d'activité des nouveaux traitements en oncologie, cardiologie et neurologie. PHARMIMAGING s'intègre également dans le contexte du Cancéropôle Grand-Est et sera fédérateur et source de projets collaboratifs. Une extension Grand-Est semble naturelle à moyen terme pour élargir les domaines de compétences et l'offre de projets en pharmaco-imagerie.

Utilisation du morphing pour la simulation des mouvements des poumons

RF

Auteur : Henriët Julien

Coordonnées : équipe IRMA / Département ENISYS / Institut FEMTO-ST, Montbéliard

E-mail : julien.henriet@univ-fcomte.fr

Tél. : 03.81.99.46.82

Résumé : Les nouvelles techniques de radiothérapie deviennent de plus en plus présentes en routine clinique. En effet, le champ d'irradiation tend à épouser au maximum la forme du volume à traiter tout en épargnant les tissus sains. Toutefois, lors du traitement, les mouvements physiologiques du patient entraînent des déformations au niveau des organes thoraciques. Ces mouvements sont pris en compte sous forme de marges souvent empiriques ajoutées au volume cible. Pour diminuer ces marges, des traitements en asservissement respiratoire sont appliqués pour certains cancers. Nos travaux portent sur le calcul de l'influence dosimétrique de la respiration au niveau de traitement du cancer des poumons, en collaboration étroite avec le CHU de Besançon dans le cadre du Cancéropôle Grand-Est. Le morphing 3D consiste à passer d'une image initiale à une image finale par des déformations successives de l'image initiale. Ce type de mécanismes est déjà utilisé pour prédire l'évolution de lésions cérébrales par exemple. Nous avons comparé des images de poumons provenant d'un scanner 4D-CT à celles obtenues via un algorithme de morphing que nous avons entièrement conçu et mis en œuvre et avons constaté une différence d'au plus 2% ! Cette première version nous permet donc d'envisager de pouvoir coupler la technique du morphing à un scanner 4D-CT. Les avantages du morphing sont multiples et non négligeables : diminuer les artefacts dus au manque d'images scanner prises à un instant précis, mais aussi d'améliorer la radioprotection du patient en phase de diagnostic. En effet, seules deux images par cycle respiratoire sont nécessaires au morphing pour simuler un mouvement, au lieu de cinq images par cycle respiratoire avec le scanner 4D-CT (chaque image prise irradiant un peu plus le patient).

Intérêt de l'étude des niveaux d'expression des phosphoprotéines de signalisation en aval de l'EGFR dans la prédiction de réponse au cétuximab de cancers colorectaux non porteurs de mutation KRAS

RT

Auteur : Jean-Louis Merlin

Coordonnées : Centre Alexis Vautrin, Unité de Biologie des Tumeurs, EA3452 Nancy

E-mail : jl.merlin@nancy.fnclcc.fr

Tél. : 03 83 59 83 07

Résumé : Contexte Les mutations somatiques de KRAS conditionnent la réponse au cétuximab (Lievre et al, JCO, 2008) dans les cancers colorectaux (CRC) mais d'autres sources de résistance liés au dysfonctionnement de la signalisation en aval de l'EGFR ont également été décrits.

Méthode : Les niveaux d'expression tumorale de phosphoprotéines de signalisation en aval de l'EGFR (p-MEK, p-ERK1/2, p-AKT, p-GSK3b, p-P70S6K) ont été analysés par Bioplex® phosphoprotéin array chez 42 patients porteurs de CRC traités par cetuximab (n=41) ou panitumumab (n=1) administré en monothérapie (n=3) ou en combinaison avec l'irinotecan (seul, n=37; FOLFIRI, n=2) et confrontés au statut KRAS.

Résultats : Parmi les 42 patients, 12 (28.5%) réponses objectives sont observées (1 CR, 11 PR) avec une survie sans progression médiane (PFS) de 15.3 semaines. Les mutations KRAS ont été observées chez 19 patients (45.2%) et associées à une absence de réponse au cetuximab (0/19 KRAS mutés vs 12/23 (52%) chez les non-mutés; p<10-4). L'absence de mutation de KRAS est associée à une PFS supérieure (32 vs 8.6 sem., p<10-5).

L'expression de p-P70S6K est plus faible chez les patients répondeurs que chez les non-répondeurs (p=.02). La PFS est supérieure chez les patients avec un niveau d'expression bas de p-P70S6K et p-MEK (hazard ratio de 2.44, p=.007 et 1.89, p=.025). Parmi les 5 phosphoprotéines évaluées, seule p-MEK permet de prédire la PFS. L'expression de p-MEK est plus élevée dans les KRAS mutés que dans les non-mutés (p<.04) et KRAS et pMEK apparaissent comme deux marqueurs prédictifs indépendants (HR 4.4, p<10-3 et 2.15, p=.03).

Conclusion : Cette étude montre l'intérêt de l'analyse des niveaux d'expression des phosphoprotéines de signalisation en aval d'EGFR dans les CRC. En ajoutant des données fonctionnelles à la recherche des mutations KRAS, ces données pourraient être utiles à une meilleure prédiction de la réponse et de la PFS dans les CRC traités par anti-EGFR et ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques.

L'intégrine $\alpha 5 \beta 1$: une cible thérapeutique et un nouvel acteur de la résistance des glioblastomes à la chimiothérapie

RF

Auteur : Dontenwill Monique

Coordonnées : UMR7175 CNRS, Département Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, Illkirch

E-mail : monique.dontenwill@pharma.u-strasbg.fr

Tél. : 03 90 24 42 67

Résumé : Dans certains tumeurs, la surexpression de l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ est associée à un phénotype plus agressif et à un mauvais pronostic vital (tumeurs pulmonaires, de l'ovaire). La sous-unité $\beta 1$ a été impliquée dans la résistance à la chimio- et radio-thérapie.

Nos résultats préliminaires sur une cohorte restreinte de biopsies humaines de tumeurs cérébrales montrent une relation positive entre le taux des ARNm des sous-unités de l'intégrine et leur grade tumoral. Nous avons manipulé génétiquement une lignée issue d'un glioblastome humain, les cellules U87MG, pour sur- ou sous-exprimer la sous-unité $\alpha 5$ de l'intégrine. L'inactivation de

l'expression de $\alpha 5$ a un impact sur la progression des cellules dans le cycle cellulaire (blocage en G0/G1), sur leur capacité à former des colonies (50% d'inhibition) et provoque une entrée en sénescence prématurée de 30% des cellules. L'inhibition de l'activité de l'intégrine par un antagoniste spécifique, le SJ749, donne des résultats similaires ; il est plus efficace pour inhiber la prolifération, la formation de colonies et la migration de cellules surexprimant l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$. Inversement, les cellules surexprimant $\alpha 5$ sont plus clonogéniques et résistent à la sénescence prématurée. Parallèlement, nous avons mis en évidence une sensibilisation des cellules U87MG à la chimiothérapie par blocage de l'intégrine à l'aide du SJ749. L'ellipticine (inhibiteur de topoisomérase II) provoque une sénescence prématurée des cellules U87MG sans induire d'apoptose. Le cotraitement des cellules par l'ellipticine et le SJ749 entraîne la mort des cellules par apoptose en modulant la voie de p53. Nous avons montré également une chimiorésistance des cellules U87MG surexprimant $\alpha 5$ à l'inhibition de la prolifération et à la sénescence prématurée induite par le Temozolomide.

Ces données suggèrent un rôle important de l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ dans le maintien du phénotype tumoral des GBM et dans la résistance des GBM à la chimiothérapie. Une population de patients à fort taux d'expression de l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ pourrait bénéficier d'un traitement associant le Temozolomide avec un antagoniste de l'intégrine.

Role of the extracellular matrix molecule tenascin-C in tumor progression

RF

Auteur : Orend Gertraud

Coordonnées : Inserm U 682, Développement et physiopathologie de l'intestin et du pancréas, Strasbourg

E-mail : gertraud.orend@inserm.u-strasbg.fr

Tél. : 03 88 27 53 55

Résumé : BACKGROUND: A high expression of the extracellular matrix component tenascin-C correlates with a bad survival prognosis in patients with several cancers. Results from cell culture experiments support a role of tenascin-C in enhancing tumor cell proliferation, promoting angiogenesis, invasion and metastasis. We showed that tenascin-C induces cell rounding by two mechanisms. Tenascin-C counteracts cell adhesion to fibronectin by blocking the integrin alpha 5 beta/syndecan-4 complex (Orend et al., 2003, Oncogene 22, 3917) which stimulated tumor cell proliferation (Huang et al., 2001, Cancer Res. 61, 8586) presumably by activation of oncogenic Wnt and MAPkinase signaling (Ruiz et al., 2004, Cancer Res. 64, 7377). Tenascin-C also induced endothelin receptor type A (EDNRA) expression, and signaling through EDNRA maintained cell rounding (Lange et al., 2007, Cancer Res. 67, 6163). By using knockdown and overexpression studies, we identified paxillin, RhoA and TM1 as critical targets of cell rounding by tenascin-C downstream of syndecan-4 and EDNRA (Lange et al., 2007, Cancer Res. 67, 6163). Signaling by the promigratory factors LPA/PDGF stimulated migration on tenascin-C (Lange et al., 2008, Cancer Res. in press).

MATERIAL & METHODS: To determine a potential tumorigenesis-promoting effect of tenascin-C in vivo, we generated transgenic mice that ectopically express human tenascin-C in the pancreatic

islets. Tenascin-C-transgenic mice, that are apparently healthy and fertile, exhibit normal development of the pancreas, but showed enhanced angiogenesis in the pancreatic islets. Next, we crossed RipTNC mice with tumor-prone RipTag2 (RT2) mice, that develop insulinomas due to ectopic expression of the SV40T-antigen and determined tumorigenesis in RT2/TNC and RT2 mice.

RESULTS: Double transgenic RT2/TNC mice experienced more frequent death incidences than RT2 mice. RT2/TNC mice exhibit several signs of enhanced tumor progression such as the appearance of local and distant metastasis.

CONCLUSION: This is the first comprehensive study describing how tenascin-C promotes tumorigenesis in vivo. Our data suggest that tenascin-C promotes several events leading to metastasis. This knowledge is important to combating tenascin-C actions in cancer.

LRP-1: a new modulator of cytoskeleton dynamics and adhesive complex turnover in cancer cells

RF

Auteur : Dedieu stephane

Coordonnées : CNRS UMR 6237MEDyC, Laboratoire SiRMa (Si-gnalisation et Récepteurs Matriciels), Reims

E-mail : stephane.dedieu@univ-reims.fr

Tél. : 03.26.91.32.69

Résumé : The low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) is a large scavenger receptor mediating the internalization and catabolism of various biological components from the extracellular matrix. In the past decade, LRP-1 appeared as an attractive receptor for targeting the invasive behaviour of cancer cells since this protein is able to reduce the accumulation of extracellular proteinases by endocytosis. However, its accurate functions remain poorly explored and highly controversial. Here we show that LRP-1 silencing by RNA interference results in a drastic inhibition of cell invasion despite a strong stimulation of pericellular proteolytic activities. Cell migration in both two- and three-dimensions is decreased by LRP-1 silencing. LRP-1-silenced carcinoma cells, which are characterized by major cytoskeleton rearrangements, display atypical overspread morphology with a lack of membrane extensions. LRP-1 silencing accelerates cell attachment, inhibits cell-substrate deadhesion, and induces the accumulation, at the cell periphery, of abundant talin-containing focal adhesion complexes deprived of FAK and paxillin. We conclude that, in addition to its well-determined role in ligand binding and endocytosis, LRP-1 emerges as a central molecular regulator of cytoskeleton organization and adhesive complex turnover in malignant cells, thereby promoting invasion.

Prévention de récurrences de tumeurs vésicales par la thérapie photodynamique après résection transurétrale dirigée par endoscopie de fluorescence

RF

Auteur : Berrahmoune Saoussen

Coordonnées : Equipe Photobiologie en Cancérologie, CRAN Nancy Université, CNRS, CAV, Vandoeuvre-lès-Nancy

E-mail : s.berrahmoune@nancy.fnclcc.fr

Tél. : 03 83 59 83 06

Résumé : **Contexte :** Le cancer de la vessie représente la deuxième cause de cancer de l'appareil urinaire. Ses tumeurs se caractérisent par des taux de récurrences très élevés causés entre autre par la ré-implantation de cellules tumorales issu de la résection transurétrale. La cystoscopie de fluorescence augmente la détection des tumeurs de 20 % par rapport à la cystoscopie standard, elle est réalisée après instillation intra-vésicale d'une prodrogue le Hexivix® (hALA) qui est un précurseur d'un photosensibilisateur : la protoporphyrine IX (PpIX). L'objectif de ce travail est d'étudier la possibilité de réduire les récurrences des tumeurs vésicales en utilisant la thérapie photodynamique suite à la résection transurétrale dirigée par fluorescence. Les cellules étant chargées de PpIX, l'effet destructif de la PDT devrait empêcher leur implantation.

Méthode : Nous avons développé un modèle préclinique post résection transurétrale dirigée par endoscopie de fluorescence chez des rats Fischer femelles 344. Après désépithélialisation de leur vessies, les cellules de carcinome transitionnelle de la vessie (AY27) préalablement incubées avec hALA (chargées de PpIX) sont instillées par voie intra vésicale. Deux concentrations cellulaires ont été étudiées (2.106 cellules/ml et 4.104 cellules/ml) et une concentration d'hALA (0,8 mM) a été utilisée. La PDT est réalisée une heure après instillation cellulaire. L'urine est ensuite récupérée pour des essais clonaux des cellules tumorales viables. Dix jours après l'expérimentation, des études anatomopathologiques des vessies sont réalisées.

Résultats : Les résultats de la PDT sont comparés à des contrôles de tumeurs orthotopiques et syngéniques de rats après instillation intravésicale de cellules AY27 : - non traitées à l'hALA et sans irradiation, - traitées juste avec l'hALA et - traitées juste avec la lumière. La PDT réalisée sur les rats instillés avec 2.106 cellules/ml induit une diminution de l'implantation tumorale de 20 % avec une diminution du volume tumoral de 64 %. Néanmoins une réduction d'implantation tumorale de 80 % est observée lorsque les rats sont instillées avec 4.104 cellules/ml. Le test de viabilité cellulaire post PDT montre une diminution du pourcentage des AY27 de 80 %.

Discussion : Notre travail préclinique montre la possibilité de réduire les récurrences des tumeurs vésicales causées par la réimplantation de cellules tumorales suite à une résection transurétrale dirigées par endoscopie de fluorescence par application de thérapie photodynamique.

Résumés des communications affichées

Thème 1

Qualité de Vie

T1.1

A multicenter cohort study to compare quality of life in breast cancer patients according to sentinel lymph node biopsy or full axillary clearance.

RC

Auteur : Dabakuyo Sandrine

Coordonnées : Centre Georges François Leclerc, Dijon

E-mail : sdabakuyo@djion.fnclcc.fr

Résumé : Purpose: A pragmatic prospective multicenter study was undertaken to assess and compare the impact of different surgical modalities on breast cancer patients' quality of life (QoL).

Patients and Methods: The EORTC QLQ-C30 and the EORTC QLQ-BR-23 questionnaires were used to assess the global health status (GHS), the arm (BRAS) and breast (BRBS) symptoms scales. The QoL was measured before surgery, just after and six and twelve months afterwards. The Kruskal Wallis test was used to compare scores according to the surgical procedure using the Bonferroni correction for multiple contrast comparisons. A mixed model analysis of variance for repeated measurements was then applied to assess the longitudinal effect of surgical modalities on QoL.

Results: Between January 1st 2005 and January 1st 2006, 518 breast cancer patients were included: 235 underwent ALND, 222 SNLB, and 61 had SLNB+ ALND. Before surgery, GHS ($p=0.7807$) and BRAS ($p=0.7688$) QoL scores were similar whatever the surgical procedure. As compared to other surgical groups, GHS 75.91(SD=17.44, $p=0.041$) and BRAS 11.39 (SD=15.36, $p<0.0001$) were better in the SNLB group 12 months after surgery. Whatever surgery type, GHS decreased after surgery ($p<0.0001$), but increased 6 months later ($p=0.0016$). BRAS symptoms increased just after surgery ($p=0.0329$) and until 6 months ($p<0.0001$) before decreasing ($p<0.0001$). Whatever the follow up, GHS and BRAS were better in the SNLB group than in the SNLB+ ALND group.

Conclusions: SNLB improved GHS and BRAS QoL in breast cancer patients. However, surgeons must be cautious, SNLB with ALND results in a poorer QoL.

T1.2

Les déterminants de la fatigue associée au cancer du sein : une revue de la littérature.

RC

Auteur : Rotonda Christine

Coordonnées : Unité de recherche clinique, Centre Alexis Vautrin, Vandœuvre-lès-Nancy

E-mail : christine.rotonda@hotmail.fr

Résumé : Contexte : La fatigue associée au cancer représente une problématique importante et complexe. Sa prévalence peut aller jusqu'à 99% pour des patientes traitées pour un cancer du sein. Cependant, les mécanismes réels qui l'induisent sont encore mal connus.

Méthode : Nous avons réalisé une revue de la littérature concernant la large variété de déterminants de la fatigue qui ont été proposés et cela principalement pendant et après une chimiothérapie adjuvante pour cancer du sein.

Résultats : De nombreux facteurs influençant la fatigue ont été identifiés dans la littérature incluant des facteurs démographiques, des facteurs liés à la maladie, aux traitements et aux symptômes.

Pour les facteurs démographiques, les résultats concernant l'âge restent mitigés, mais souvent une association négative entre l'âge et la fatigue est retrouvée principalement après la chimiothérapie, de même pour le statut marital et le revenu annuel. Concernant les caractéristiques de la maladie, aucune association n'a été retrouvée entre la fatigue et le stade de la maladie. Cependant, une association positive ressort souvent entre la fatigue et la réduction d'activité et/ou la dégradation de l'état de santé de la patiente et cela pendant la chimiothérapie. Peu d'études ont réellement étudié l'effet des protocoles de chimiothérapie adjuvante. Néanmoins, une étude a montré une fatigue plus élevée chez des patientes recevant une combinaison de traitements lors de leur chimiothérapie. Les études les plus récentes ont conclu à l'influence de facteurs tels que la douleur, les problèmes de sommeil et la dépression sur la fatigue mais un point reste à éclaircir, il s'agit de savoir si ce sont les symptômes qui induisent la fatigue ou inversement.

Discussion : La réalisation d'analyses longitudinales prenant en compte l'ensemble des facteurs associés à la fatigue et les nouvelles molécules thérapeutiques de chimiothérapie adjuvante permettrait une meilleure compréhension de ce phénomène.

T1.3

Validation de la version française de questionnaires de qualité de vie spécifiques du cancer colorectal : l'EORTC QLQ-CR38 et le FACT-C.

RC

Auteur : Rotonda Christine

Coordonnées : Unité de recherche clinique, Centre Alexis Vautrin, Vandœuvre-lès-Nancy

E-mail : christine.rotonda@hotmail.fr

Résumé : **Contexte :** Jusqu'ici aucun questionnaire validé n'était disponible en langue française pour évaluer la qualité de vie des patients atteints de cancer colorectal. Le but de cette étude est de valider les questionnaires QLQ-CR38 de l'European Organization for Research and Treatment (EORTC) et le Functional Assessment of Cancer Therapy-Colorectal (FACT-C, version 4).

Méthode : Dans cette étude prospective multicentrique menée entre avril 2004 et février 2007, 209 patients atteints de cancer colorectal ont été inclus (71 patients traités par chimiothérapie, 15 par chirurgie, 56 par radiothérapie et 67 en cours de surveillance). Ils ont rempli le questionnaire EORTC QLQ-C30, suivi du module QLQ-CR38 et le FACT-C, l'ordre de passation des questionnaires étant randomisé. Un rapport de fin de questionnaire leur était remis pour évaluer l'acceptabilité et leur préférence entre les deux questionnaires EORTC et le FACT-C.

Résultats : L'acceptabilité du questionnaire FACT-C a été satisfaisante, la reproductibilité assez bonne et la cohérence interne excellente. En revanche, le QLQ-CR38 donne lieu à de nombreuses réponses manquantes et sa cohérence interne a paru plus faible. La plupart des patients n'ont pas eu de préférence pour un questionnaire ou un autre.

Conclusion : Cette étude démontre la validité de la version française du FACT-C et objective les limites du module EORTC QLQ-CR38 pour évaluer la qualité de vie de patients atteints d'un cancer colorectal.

T1.4

Validation de la version française de questionnaires de qualité de vie spécifiques du cancer colorectal : l'EORTC QLQ-CR38 et le FACT-C.

RC

Auteur : Lemonnier Irawati

Coordonnées : EA 4003 – Nancy Université, CIC-EC Inserm CIE6 CHU de Nancy, Nancy

E-mail : i.lemonnier@chu-nancy.fr

Résumé : **Contexte :** La tomographie par émission de positons (TEP), implantée dans 5 régions du Nord-Est en 2002-2003 est censée améliorer la prise en charge diagnostique du NPI en facilitant la différenciation des nodules malins ou bénins. Cette nouvelle offre pourrait s'accompagner d'une amélioration de la QV des patients. Nous proposons d'étudier la QV des patients 6 mois après le diagnostic et l'influence des caractéristiques socio démographiques et cliniques sur la qualité de vie des patients.

Méthode : Deux cohortes ont été constituées avant (2002–2003) et après (2004-2005) l'implantation des TEP. La QV, mesurée par le SF36 et l'EORTC QLQ-C30, les caractéristiques sociodémographiques et cliniques ont été recueillies. Un modèle de régression linéaire a permis d'étudier l'effet de ces différents paramètres sur le niveau de QV des patients.

Résultats : La proportion des fumeurs, nodule non calcifié, ou spiculé est plus élevée chez les patients diagnostiqués ayant un nodule pulmonaire malin. Les patients ayant un NPI bénin ont une meilleure qualité de vie (SF36), notamment dans les dimensions : rôle physique, santé mentale, rôle émotionnel, fonctionnement social, et composant mental ($p < 0.05$). Le fonctionnement cognitif chez les patients ayant un NPI malin a le score moyen plus élevé, mais ces patients souffrent beaucoup de dyspnée et fatigue (EORTC). Le nombre d'examen élevé au cours du bilan diagnostique est associé à une diminution de scores de dimension rôle physique ($p = 0.009$), rôle émotionnel ($p = 0.008$), et la santé en générale ($p = 0.04$) - (SF36). L'âge plus élevé est associé à des scores plus faibles dans les dimensions Fonctionnement physique, Limitations dues à l'état physique et émotionnel, Vitalité, Santé globale du SF36 ($p < 0.01$); et les dimensions Fonctionnement physique, Cognitif, Santé globale et Dyspnée de l'EORTC ($p < 0.01$).

Discussion : Six mois après leur diagnostic, les patients ayant un NPI bénin ont une meilleure qualité de vie que les patients ayant un NPI malin. L'âge élevé est associé à la diminution de scores de qualité de vie chez les patients ayant un NPI.

Thème 2

Evaluation des pratiques

T2

La tomographie par émission de positons (TEP) modifie-t-elle la prise en charge diagnostique du nodule pulmonaire isolé (NPI) ?

RC

Auteur : Lemonnier Irawati

Coordonnées : EA 4003 Nancy Université, CIC-EC Inserm CIE6
CHU de Nancy, Nancy

E-mail : i.lemonnier@chu-nancy.fr

Résumé : Contexte : La prise en charge diagnostique du NPI est souvent difficile. Elle dépend des caractéristiques du patient et du nodule, ainsi que de l'accessibilité aux différentes techniques disponibles. Actuellement, il n'existe aucune recommandation d'utilisation de la TEP pour déterminer la nature des NPI, maligne ou bénigne. Récemment, des TEP ont été installés dans 5 régions du nord-est de la France. Nous proposons de décrire la prise en charge diagnostique du NPI, les bénéfices apportés par l'installation de TEP, à travers le nombre d'examens réalisés, le nombre d'examens jugés à posteriori évitables, et d'identifier les déterminants d'utilisation de la TEP.

Méthodes : Une étude prospective, non randomisée, menée avant (2002–2003) et après (2004–2005) l'installation des TEP, a permis d'examiner respectivement 11515 et 20075 comptes rendus (CR) de scanner.

Résultats : Au final, l'analyse statistique repose sur 112 patients/152 (avant) et 250/307 (après). Aucune différence d'âge n'a été observée (respectivement 64,9 et 64,8 ans). « Avant », 4 examens diagnostiques ont été réalisés en moyenne par patient contre 3 « après » ($p < 0,001$). L'analyse multivariée a montré que le nombre d'examens était significativement plus faible lorsque (1) le premier examen était prescrit par un généraliste ($p < 0,001$) et (2) le nodule était non spiculé ($p < 0,001$), quelle que soit la période. La proportion d'examens jugés à posteriori évitables était similaire entre les deux périodes. La TEP a été utilisée chez 11 % des patients, et la présence d'un nodule spiculé est le seul déterminant de l'utilisation de TEP identifié.

Discussion : Les études de type « analyse décisionnelle » montrent que la stratégie diagnostique du NPI en utilisant le TEP est plus coût-efficace que les autres stratégies quand le risque de malignité du nodule est modéré, mais l'implantation de la TEP en France n'a pas permis de réduire la proportion d'examens jugés évitables à posteriori.

Thème 3

Biomarqueurs et Imagerie

T3.1

Direct infrared spectral imaging from formalin-fixed paraffin-embedded samples of human skin carcinoma.

RT

Auteur : David Sebiskveradze, Cyril Gobinet, Elodie Ly, Valeriu Vrabie, Michel Herbin, Michel Manfait, Pierre Jeannesson, Olivier Piot

Coordonnées : Unité MéDIAN, MEDyC CNRS UMR 6237, Reims
E-mail : david.sebiskveradze@univ-reims.fr

Résumé : Infrared (IR) micro-spectral imaging is an efficient method to analyze the endogenous molecular composition of biomedical samples. Recent studies have shown its potential to diagnose cancerous tissues, independently of visual morphology. However, some limitations appear when formalin-fixed paraffin-embedded tissues are studied due to the intense IR contribution of paraffin, unless a time-consuming and aggressive chemical dewaxing is performed. Here, we analyze the efficiency of two digital dewaxing methods to exclude the paraffin influence from IR images acquired on a human skin basal cell carcinoma (BCC) sample. The EMSC (Extended Multiplicative Signal Correction) method conventionally used in IR spectroscopy to neutralize paraffin contribution is compared to the ICA+NCLS (Independent Component Analysis + Nonnegatively Constrained Least Squares) technique, initially developed for Raman spectroscopy and applied here to IR spectral images. The ICA+NCLS was proved to be very effective for removing the paraffin signal in Raman spectra; which is of particular interest to extract the biological information specific of the tissue. The effects of both methods were evaluated by comparing colour-coded images reconstructed after statistical multivariate processing (K-means clustering). Based on the correlation between spectral images and conventional histology (Hematoxylin-Eosin staining), our preliminary data indicate that the ICA+NCLS is as effective as the EMSC method. Further experiments concerning the pre-processing steps (fluorescence background correction, paraffin peak alignment and width correction), are needed to improve the efficiency of the ICA+NCLS method.

T3.2

IR Spectral Imaging for Histopathological Characterization of Xenografted Human Colon Carcinomas.

RT

Auteur : Rolf Wolthuis, Adrian Travo, Céline Nicolet, Agnès Neuville, Marie-Pierre Gaub, Dominique Guenot, Michel Manfait, Pierre Jeannesson, Olivier Piot

Coordonnées : Unité MéDIAN, MEDyC CNRS UMR 6237, Reims
E-mail : olivier.piot@univ-reims.fr

Résumé : There is a growing interest in vibrational IR microspec-

troscopy for histopathologic characterization of neoplastic tissues. Contrary to classical histological methods, mainly morphology-based, IR spectroscopy probes the intrinsic chemical composition of tissues without requiring dyes or molecular probes. Here, formalin-fixed paraffin-embedded xenografts of human colon carcinomas, previously histologically and genetically characterized, were used to generate an IR based-histology, potentially more informative than conventional hematoxylin-eosin (HE) staining. The combination of chemometric and statistical multivariate treatments of spectral data, revealed a marked tumor heterogeneity, directly from paraffinized sections without requiring chemical dewaxing. In the xenografts, we identified three spectral color-coded clusters associated to tumoral tissues, whereas HE staining revealed only a single tissular tumor structure. This spectral classification proved to be consistent over multiple passages of the same tumor confirming that intra-tumoral heterogeneity was maintained over time. Nine other clusters were assigned to either necrotic or host tissues. In addition, developing an innovative image computational analysis, based on the quantification of neighboring pixels, permitted the identification of two main sequences of spectral clusters related to the tissue spatial organization of the xenografted tumors. Molecular attribution of the spectral differences existing between the tumor clusters revealed that one of them is associated with tumoral tissue exhibiting a higher transcriptional activity. In conclusion, IR spectral imaging proves to be highly effective both for reproducible tissue subtype recognition and for tumor heterogeneity characterization. This may represent an attractive tool for routine, automated, high throughput diagnostic challenges, independent from visual morphology.

T3.3

Métabolomique des tumeurs neuroblastiques de l'enfant.

RF

Auteur : A Imperiale, A Neuville, K Elbayed, M Piotto, JP Bellocq, P Lutz, IJ Namer

Coordonnées : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : Alessio.Imperiale@chru-strasbourg.fr

Résumé : Le neuroblastome (NB), une des plus communes tumeurs solides de l'enfance, est groupé avec le ganglioneurome (GN) et le ganglioneuroblastome (GNB) dans la catégorie pathologique appelée Tumeurs Neuroblastiques Périphériques (TNP). Le but de cette étude préliminaire est de caractériser par la spectroscopie RMN HRMAS le contenu métabolique des échantillons intacts de biopsie obtenus à partir de 14 patients affectés par TNP. À notre connaissance, ce travail représente la première analyse métabolique ex vivo de TNP par HRMAS. Dans une première étape, des données HRMAS obtenues à partir des échantillons tumoraux ont été comparées à la médullaire de la surrénale d'un mini-porc sain. L'analyse métabolique a permis une discrimination claire entre les TNP et le tissu normal. Les acides aminés identifiés dans

les biopsies de TNP suggèrent une production accrue d'acide aminé par l'intermédiaire des voies non-oxydantes. Des composés liés à la choline ainsi que des lipides et d'autres métabolites comme le myoinositol, le glycérol, le GABA, le NAA et l'acétate ont été détectés dans des biopsies de TNP. Dans une deuxième étape, le rapport entre le profil métabolique des échantillons tumoraux et les données cliniques des patients ont été étudiés. Des biopsies de NB ont pu être différenciées des biopsies de GNB et de la GN par une analyse statistique des données métaboliques. L'NAA et le complexe GABA/glutamate/glutamine ont été détectés dans les NB. En outre, les biopsies de NB des enfants plus âgés ou plus jeune qu'un an ont montré des différences métaboliques significatives. En fin, le différent degré de fixation de la 123I-mIBG par les TNP semble être corrélée avec un profil métabolique particulier. En conclusion, nos résultats préliminaires suggèrent l'existence d'une réalité métabolique complexe dans le sein des TNP, influençant probablement le comportement biologique des tumeurs et probablement qui est connexe à des facteurs pronostiques cliniques établis. Cependant, l'impact réel de ces résultats préliminaires intéressants devrait être évalué par des études à long terme incluant un plus grand nombre de patients.

T3.4

Maladie de Hodgkin : analyse comparative des données métaboliques en HRMAS-RMN et du PET-FDG.

RF

Auteur : A Imperiale, A Neuville, K Elbayed, M Piotto, C Blondet, JP Bellocq, R Herbrecht, IJ Namer

Coordonnées : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : Alessio.Imperiale@chru-strasbourg.fr

Résumé : Dans un but d'analyse prospective de la maladie de Hodgkin sur son versant métabolique, nous avons croisé les données issues de techniques complémentaires, la spectroscopie RMN HRMAS sur matériel biopsique et la tomoscintigraphie par émission de positons au 18F-FDG (PET-FDG). Dix biopsies diagnostiques issues de dix adénopathies lymphomatoses hodgkiniennes de dix patients ont été étudiées en HRMAS. Une classification automatique de l'ensemble du spectre unidimensionnel a été établie sans recours à des connaissances de type expert. Par ailleurs, le bilan d'extension initial de la maladie a comporté un examen PET-FDG (5,5 MBq/kg, acquisition 60 min après injection), afin de corréler la fixation glucosée à l'information métabolique spectrométrique en analyse discriminante par moindres carrés partiels (PLS-DA). Les classes ont été établies grâce aux valeurs normalisées des SUV maximales (mSUV) obtenues sur le groupe ganglionnaire au sein duquel a été extrait le matériel biopsique.

On retrouve une corrélation significative entre l'information métabolique HRMAS et le mSUV ($R2Y = 0,94$). De plus, un mSUV supérieur à 7 est lié à l'augmentation de différents métabolites : (1) le glucose, comme attendu ; (2) la choline ; (3) l'alanine et les lactates. En conclusions, concernant la maladie de Hodgkin, les analyses HRMAS couplées au PET-FDG suggèrent qu'une fixation glucosée et intense signifie une prolifération cellulaire accrue, principalement couplée à un métabolisme anaérobie.

T3.5

Valeur prédictive de la spectroscopie RMN in-vivo dans les glioblastomes.

RF

Auteur : D Ben Sellem, S Heymann, S Kremer, G Noël, IJ Namer

Coordonnées : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : bensellem_dorra@yahoo.fr

Résumé : **Objectif** : déterminer si les paramètres métaboliques spectroscopiques RMN in-vivo ont une valeur prédictive dans l'évaluation des glioblastomes.

Matériels et méthodes : 42 patients âgés de 18 à 78 ans, opérés d'un glioblastome ont bénéficié 1 mois après la chirurgie et avant la radiothérapie d'une spectroscopie RMN. La mesure des métabolites (choline, créatine, NAA et lactate) est normalisée par rapport au parenchyme sain controlatéral. L'imagerie spectroscopique a été réalisée en mode 3D avec un appareil 1,5T (TR=1500 ms, TE=135 ms). Les patients ont été divisés en 2 groupes : le 1er de mauvais pronostic avec une survie < 9 mois et le 2ème de meilleur pronostic avec une survie > 9 mois.

Résultats : l'analyse des courbes ROC nous a permis de déterminer 2 seuils pronostiques de nCréatine (marqueur de la déoxygénation) et de nNAA (marqueur neuronal) respectivement de 0,45 (sensibilité 80%) et de 0,46 (sensibilité 93%). La survie des patients ayant une créatine normalisée inférieure à 0,45 est significativement inférieure à celle des patients ayant une créatine normalisée supérieure à 0,45. La survie des patients ayant un nNAA inférieur à 0,46 est significativement inférieure à celle des patients ayant un nNAA supérieur à 0,46. La choline (indicateur de la prolifération cellulaire) n'est pas prédictive du pronostic du patient.

Conclusion : la spectroscopie RMN in-vivo a une valeur prédictive dans l'évaluation des glioblastomes.

T3.6

Métabolisme des cancers épithéliaux de l'ovaire.

RF

Auteur : D Ben Sellem, B Dillmann, A Neuville, K Elbayed, M Piotto, JP Bellocq, IJ Namer

Coordonnées : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : bensellem_dorra@yahoo.fr

Résumé : Malgré les énormes efforts de recherche, les cancers de l'ovaire continuent à présenter un défi aux cliniciens avec une évolution clinique peu satisfaisante marquée par des récurrences fréquentes quasi-systématiques en dépit d'un traitement initial adéquat. En plus, les récurrences tumorales sont souvent résistantes et réfractaires à la chimiothérapie. La détection des rechutes au stade de la maladie occulte améliorerait le pronostic, mais cette détection se heurte aux limites de l'imagerie. Aucune étude métabolomique des cancers de l'ovaire par spectrométrie RMN HRMAS n'a été réalisée jusqu'à nos jours.

Le but de cette étude préliminaire est de caractériser par la spec-

troscopie RMN HRMAS le contenu de 53 échantillons de biopsies de cancers épithéliaux de l'ovaire (34 séreux, 13 mucineux et 6 endométrioïde) et de 3 échantillons d'ovaires normaux. Les inserts analysés contiennent une masse de 18mg (valeur médiane), et sont soumis à un test de 20min en rotation à 3500Hz, sans altération visible de l'intégrité des tissus. Nos résultats de classification sur les 3 catégories de tumeurs nous permettent de dégager les métabolites significatifs grâce à une implémentation de la PLS-DA.

L'analyse métabolique a permis une discrimination claire entre les 2 types mucineux et endométrioïde et le tissu normal, alors que le profil métabolique du type séreux est très hétérogène et plus difficile de distinguer du tissu sain. Une première analyse d'identification montre l'importance des principaux métabolites, tels que (par ordre d'importance) : myo-inositol, prolines et dans la moindre mesure isoleucine, valine, lactate, alanine, lysine, méthionine, glutamate, glutamine, acide citrique, créatine, choline, glucose, taurine, glycine.

En conclusion, nos résultats préliminaires suggèrent l'existence d'une réalité métabolique complexe dans le sein des cancers épithéliaux de l'ovaire, influençant probablement le comportement biologique des tumeurs et ouvre des perspectives de corrélation avec l'évolution clinique des patients.

T3.7

Métabolomique des adénocarcinomes du colon.

RF

Auteur : B Dillmann, A Imperiale, FM Moussallieh, A Neuville, K Elbayed, M Piotto, C Brigand, JP Bellocq, IJ Namer

Coordonnées : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : baudouin.dillmann@ulp.u-strasbg.fr

Résumé : Le cancer colorectal est le plus fréquent des cancers, tous sexes confondus avec un taux de survie qui reste bas, malgré une progression des stratégies thérapeutiques. Le but de cette étude prospective est de caractériser par spectroscopie RMN HRMAS le contenu métabolique des échantillons intacts d'adénocarcinome colo-rectal (ADK) obtenus à partir de 27 patients traités chirurgicalement d'emblé. Nous nous sommes ainsi proposés d'établir une cartographie métabolique du colon normal en analysant des échantillons de tissu sain obtenu à partir de chaque pièce opératoire.

L'analyse discriminante par moindres carrés partiels (PLS-DA) a permis une distinction claire entre les ADK et le tissu normal. Les spectres obtenus ont permis d'attribuer toute une série de métabolites, spécifiques du comportement cancéreux. Par ordre nous distinguons parmi eux, neuf métabolites d'une importance particulière, à savoir : taurine, proline, choline, glutamate, myo-inositol, glycine, glycerol, ethanolamine, et scyllo-inositol. Ces molécules sont liées à l'activité des ADK.

D'autre part, des résultats préliminaires de classification sur le tissu sain, semblent indiquer que le colon droit est plus riche en phosphocholine que le colon gauche, alors que ce dernier est caractérisé par un signal de glutamate plus intense. Par contre, aucune différence statistiquement significative quant à la localisation spatiale n'a été mise en évidence dans les échantillons tumoraux provenant du côlon droit (caecum, ascendant et trans-

verse proximal) ou gauche (transverse distale, descendante et sigmoïde).

Cette étude s'inscrit dans une démarche plus vaste que celle de la classification des tumeurs, puisqu'elle permet d'accéder aux fondements biochimiques indispensables au bon fonctionnement d'un organe. La prochaine étape, est de mettre en rapport, le profil métabolique des ADK et les données cliniques des patients. Cette étude s'inscrit dans une démarche qui permet un suivi sur le long terme des patients.

T3.8

Etude du métabolome chez le mini porc.

RF

Auteur : FM Moussallieh, K Elbayed, M Piotto, C Solano, A Neuville, D Mutter, JP Bellocq, IJ Namer

Coordonnées : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : fmmoussallieh@chimie.u-strasbg.fr

Résumé : Dans le cadre de l'étude du métabolome de tissus cancéreux, il est important de comparer les données issues de l'analyse spectroscopique par RMN HRMAS de biopsies cancéreuses avec celles issues de tissus « normaux », indemnes de toute pathologie. Lors de l'ablation chirurgicale d'une tumeur qui peut être plus ou moins étendue, il est parfois possible de prélever le tissu sain environnant. La difficulté réside alors dans la certitude de pouvoir différencier le tissu malin du tissu sain. D'où l'intérêt d'avoir à disposition une « métabolothèque » de tissu normal afin d'étudier d'éventuelles différences de profil métabolique avec le tissu malin prélevé au bloc opératoire. Parmi les différents modèles animaux utilisés depuis longtemps en recherche fondamentale en Biologie, le modèle du « mini-porc » peut constituer une hypothèse intéressante en raison de considérations anatomiques et morphologiques. A notre connaissance, un faible nombre d'études spectroscopiques par RMN HRMAS du métabolome des organes de l'animal ou de l'Homme ont été réalisées.

L'objectif de notre travail est donc la création d'une base de données métaboliques du « normal » à partir d'un modèle animal de mini-porc et, le cas échéant, sa confrontation avec des données issues de l'analyse spectroscopique de tissus humains à notre disposition. Pour cela, des échantillons tissulaires de différents organes d'un mini-porc femelle ont été prélevés au bistouri froid, sous anesthésie générale, et placés dans des rotors en vue de leur analyse par spectroscopie RMN HRMAS. Nous présenterons les résultats de l'étude par RMN HRMAS réalisée sur 24 structures différentes.

Les données à la fois qualitatives et quantitatives issues de cette étude permettront l'établissement de profils métaboliques des différents organes étudiés.

T3.9

Etude du phénotype CIMP dans les cancers coliques sporadiques : analyse d'une base de population de 582 cas.

RT

Auteur : Barault Ludovic

Coordonnées : INSERM U866 – laboratoire d'anatomie pathologique CHU Dijon, Dijon

E-mail : ludovic.barault@u-bourgogne.fr

Résumé : Les cancers coliques CIMP+ (CpG island methylator phenotype) possèdent des caractéristiques anatomo-cliniques et moléculaires spécifiques et proches des cancers MSI-H (MicroSatellite Instability High). La plupart des études portant sur la méthylation ne distinguent que 2 groupes de cancers: hautement méthylés (CIMP-H) et peu ou pas méthylés (CIMP-L ou No-CIMP). Dans notre étude, nous avons défini 3 groupes de méthylation (No-CIMP, CIMP-L et CIMP-H) et évalué leur valeur pronostique sur une base de population de cancers coliques sporadiques.

Un total de 582 adénocarcinomes a été caractérisé par Methylation Specific PCR fluorescente à l'aide de 5 marqueurs. Le statut No-CIMP a été défini par l'absence de méthylation des marqueurs étudiés, le statut CIMP-L pour 1 à 3 marqueurs méthylés, et CIMP-H pour 4 à 5 marqueurs méthylés. Le statut de méthylation a été confronté aux données anatomo-cliniques et moléculaires (statut MSI, mutation de BRAF et KRAS), et la survie globale et relative des patients a été évaluée.

Dans le groupe MSS (MicroSatellite Stable), le statut CIMP-H était associé à une localisation proximale ($p=0,011$), à la mutation de BRAF ($p<0,001$). Les mutations de KRAS étaient associées aux statuts CIMP-H et CIMP-L ($p=0,008$). A 5 ans la survie relative des patients MSS était d'autant plus faible que leur tumeur était méthylée. Ces résultats restaient significatifs en analyse multivariée ajustée sur l'âge, le stade, et les mutations de BRAF et KRAS (CIMP-L: HR=1.85; CI95%:[1,37-2,51]; CIMP-H: HR=2,90; CI95%:[1,53-5,49] comparé à No-CIMP). Chez les patients MSI-H, aucune différence de survie n'était observée en fonction de la méthylation.

Notre travail démontre que les patients MSS des groupes No-CIMP et CIMP-L ont des caractéristiques anatomo-cliniques similaires mais une survie différente. Il souligne l'effet pronostique péjoratif du niveau de méthylation chez les patients MSS et l'importance majeure d'identifier les 3 groupes de méthylation.

T3.10

Infidélité de la Transcription : vers une approche statistique globale basée sur des données SAGE.

RF

Auteur : Kieffer David

Coordonnées : IGBMC/Gencils, Illkirch

E-mail : dkieffer@igbmc.fr

Résumé : L'Infidélité de la Transcription (IT) est un mécanisme récemment démontré [1], responsable de l'introduction, durant la transcription, de substitutions, délétions ou insertions au sein des ARNs messagers. Les études réalisées sur de larges séries

d'ESTs (Expressed Sequence Tags) ont révélées que l'IT est statistiquement accentuée dans les tissus cancéreux, et touche principalement la partie 3' des ARN messenger.

Pour aborder l'étude des mécanismes responsables de l'IT, nous avons utilisé les données SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) présentes dans la base de données SAGETTARIUS [2]. Nous avons comparé, par différentes méthodes statistiques, 300 expériences SAGE classées entre tissus sains et cancéreux afin d'analyser les variations de détection des SAGE-tags (séquences spécifiques uniques localisées en 3' des mRNAs). Dans un premier temps, ces études ont été mises au point sur les données SAGE correspondants aux transcrits de protéines ribosomales, puis les analyses ont été étendues à l'ensemble des données.

Nos tests ont montré que, dans les tissus sains, la détection des SAGE-tags est statistiquement supérieure à celle observée dans les tissus cancéreux. De plus, dans les cancers, une augmentation du nombre de SAGE-tags inconnus a pu être observée spécifiquement. Nous avons pu vérifier que ces SAGE-tags inconnus correspondent à des transcrits connus dont le SAGE-tag a subi une mutation.

Pris dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que l'IT est susceptible de biaiser significativement les analyses SAGE comparant tissus sains et cancéreux. De plus, nos études ont permis d'identifier certains gènes présentant une sensibilité à l'IT variable selon les cancers.

[1] Marie Brilliard et al, PNAS, March 14, 2007 Nonrandom variations in human cancer ESTs indicate that mRNA heterogeneity increases during carcinogenesis.

[2] Laurent Bianchetti et al., Nucleic Acids Research, 2007 SAGETTARIUS: a program to reduce the number of tags mapped to multiple transcripts and to plan SAGE sequencing stages.

T3.11

GxDB : un outil de gestion, de traitement, d'analyse et de visualisation des expériences de transcriptomique.

RF

Auteur : Poidevin Laetitia, Berthommier Guillaume, Rousselet Odile, Zieger Antoine, Raffelsberger Wolfgang, Nguyen Hoan, Léveillard Thierry, Poch Olivier et Ripp Raymond

Coordonnées : IGBMC, Illkirch

E-mail : Laetitia.Poidevin@titus.u-strasbg.fr

Résumé : Au cours de ces dernières années, la transcriptomique est devenu un outil essentiel dans beaucoup de domaines de recherche. Elle prend également tout son essor dans l'étude des cancers. Cette technologie, en constante évolution, produit de grandes quantités de données. L'analyse et la meta-analyse (la comparaison transversale entre différentes expériences) de ces données reste assez laborieuse et est difficilement accessible aux biologistes.

Pour répondre à ces besoins, nous proposons une plateforme innovante permettant une grande automatisation des tâches, la visualisation des données et fournissant au biologiste des outils d'annotations et d'analyses approfondies. De plus cette plateforme doit permettre au bioinformaticien de développer et d'intégrer de nouveaux outils.

Ce système dédié à la transcriptomique, nommé GxDB, combine une base de données relationnelle, des outils d'analyse et un site web sécurisé. Le caractère modulable de GxDB nous permet d'analyser des données de nature très différentes, comme des tissus et cancers de colon, duodénum, muscle, cerveau et rétine. Après le téléchargement des données grâce une interface web conviviale, une série d'analyses est lancée en automatique et peut être affinée par un expert humain. GxDB permet de combiner différents outils tout au long de l'analyse d'une expérience et donc de comparer plusieurs méthodes, mais aussi les expériences entre elles.

En conclusion, nous sommes convaincus que notre nouvelle plateforme permettra de gagner du temps, de faciliter le travail en réseau et de mieux mettre en évidence les informations que fournies la transcriptomique.

T3.12

Evaluation d'une méthode de criblage par dHPLC des exons 11 et 15 du gène B-raf sur matériel de cytoponctions thyroïdiennes.

RT

Auteur : MC Gorisse¹, C Schwartz¹, JM Pochart¹, M Pluot^{1,2}, E Brabencova¹, C Delvincourt¹

(1) Institut Jean Godinot – Reims, (2) CHR Reims

Coordonnées : Institut Jean Godinot, Reims

E-mail : marie-claude.gorisse@reims.fnclcc.fr

Résumé : L'analyse cytologique du matériel de ponction des nodules thyroïdiens est un élément décisionnel important pour poser le diagnostic de malignité. Cependant 15 à 20 % des cytoponctions sont non informatives. L'identification des mutations du gène B-raf est un élément complémentaire déterminant. Ces mutations ont été mises en évidence dans environ 40 % des cancers papillaires avec une spécificité de 100 %. La mutation Val600Glu sur l'exon 15 est la plus fréquente, les mutations de l'exon 11 sont plus rares.

L'objectif de l'étude est d'adapter les techniques de biologie moléculaire à ce matériel.

L'étude a évalué les performances d'une technique d'extraction d'ADN, de criblage par dHPLC (chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante) et de séquençage. Les conditions opératoires ont été déterminées pour les exons 11 et 15 et les jonctions intron-exon. Le choix de 3 températures de dénaturation pour chaque amplicon a permis d'optimiser la séparation des différents profils d'éluion. Les profils ont été comparés après normalisation afin d'obtenir une meilleure discrimination. Le séquençage des prélèvements présentant un variant a permis l'identification de la mutation.

Une étude préliminaire a été réalisée sur 5 cytoponctions de piéces opératoires de thyroïde et 5 coupes en paraffine de cancers papillaires. Cinq prélèvements ont présenté des profils d'éluion indiquant la présence d'un variant. Le séquençage a permis d'identifier la mutation c.1799T>A. Ces résultats sont en adéquation avec le diagnostic anatomopathologique. La méthode a été ensuite appliquée à 40 cytoponctions thyroïdiennes correspondant à : 12 cas bénins, 22 atypies, 2 suspects de malignité, 1 cancer vésiculaire, 3 cancers papillaires. Seuls 5 prélèvements

se sont révélés trop peu cellulaires pour l'étude. Un prélèvement a montré un profil d'éluion de l'exon 15 indiquant la présence d'un variant. Le séquençage a permis d'identifier la mutation Val600Glu. Il s'agit d'un cancer papillaire métastatique.

En conclusion, la méthode de criblage par dHPLC des exons 11 et 15 du gène B-raf sur cytoponctions thyroïdiennes semble être une méthode compatible avec les exigences du diagnostic préopératoire.

T3.13

Apport de la TEMP-TDM dans la pratique quotidienne de la scintigraphie osseuse en cancérologie.

RC

Auteur : Bruna-Muraille Claire

Coordonnées : Institut Jean Godinot, Reims

E-mail : claire.bruna@reims.fnclcc.fr

Résumé : **Contexte :** La scintigraphie osseuse est un examen essentiel pour le diagnostic de métastases osseuses mais ses résultats sont parfois douteux. Les services de médecine nucléaire disposent depuis peu de gamma-caméras couplées à un scanographe qui permettent de réaliser des examens TEMP-TDM (Tomographie d'émission monophotonique – Tomodensitométrie). Nous évaluons l'apport de cette nouvelle technique sur la qualité des comptes-rendus en pratique quotidienne en cancérologie.

Méthode : Sur une durée de un an, 1435 patients ont été explorés par scintigraphie osseuse corps entier à la recherche de métastases osseuses (Caméra : Siemens ecam, Symbia S ou T2, Diphosphonate 99m Tc : 700 MBq/70kg). Parmi ceux-ci, 150 étaient considérés comme douteux et ont bénéficié d'une TEMP-TDM (Caméra : Siemens Symbia T2, 64 projections de 15 ou 30 s, TDM : 50 mAs, 130 keV, coupe de 1,25 à 5 mm). Le nombre de résultats douteux est calculé après les examens TEMP-TDM. Les mêmes calculs sont faits pour les anomalies rachidiennes.

Résultats :

Sur les 150 examens déclarés douteux à l'issue de la scintigraphie osseuse corps entier, 38 (25 %) restaient douteux, 112 (75%) se voyaient attribuer un diagnostic après TEMP-TDM.

Parmi ces patients, 109 (73 %) présentaient des anomalies douteuses au niveau du rachis. Parmi ceux-ci, 22 (20%) restaient douteux, 109 (80%) se voyaient attribuer un diagnostic après TEMP-TDM.

Discussion : La TEMP-TDM réduit fortement le nombre de scintigraphies osseuses douteuses dans la recherche de métastases osseuses, en particulier au niveau du rachis. Des études sont nécessaires pour estimer le gain en sensibilité et spécificité.

Thème 4

Radiothérapie et Thérapie Photodynamique

Dosimétrie

T4.1

Impact dosimétrique des implants dentaires lors d'un traitement en radiothérapie

RF

Auteur : De Conto Céline, Gschwind Régine

Coordonnées : IRMA/ENSYSYS/FEMTO-ST, Montbéliard

E-mail : deconto.celine@neuf.fr

Résumé : La population vieillit et de plus en plus de patients traités pour un cancer sont porteurs d'implants (prothèse de hanche, pacemaker, implants dentaires...). Les balistiques préconisées dans un traitement radiothérapeutique doivent éviter le passage au travers de ces implants, mais quelquefois le passage est inévitable.

Dans le but de quantifier avec précision les modifications de dose engendrées par la présence des implants (généralement composés de matériaux très denses), l'étude s'est focalisée sur les implants dentaires (couronne, amalgame). A l'aide d'un fantôme simple, des mesures expérimentales ont été réalisées avec des détecteurs thermoluminescents et des films Gafchromic sur un accélérateur Clinac 2100C et un saturne 43. En parallèle, des calculs théoriques, par méthode de Monte Carlo, ont été effectués avec le même modèle de fantôme.

Les résultats obtenus expérimentalement avec les implants ont été comparés dans un premier temps avec les résultats obtenus pour une dent «normale» (témoin) puis dans un deuxième temps avec les calculs réalisés par Monte Carlo.

Cette étude met en évidence les modifications de distribution de la dose au niveau local autour de l'implant par rapport à une configuration sans implant. Ce travail se poursuivra par la quantification de la modification de la dose au niveau d'une tumeur ORL.

Radiosensibilité

T4.2

Radiosensibilisation par des sels de platine : l'oxaliplatine, combiné aux radiations ionisantes, induit la mort cellulaire par autophagie dans une lignée de carcinome hépatocellulaire.

RF

Auteur : Altmeyer Anais

Coordonnées : EA-3430, Université Louis Pasteur, Centre de Lutte contre le Cancer Paul Strauss, Strasbourg

E-mail : anais.altmeyer@ulp.u-strasbg.fr

Résumé : Les combinaisons entre des sels de platine et des radiations ionisantes (RI) sont devenues courantes en chimio-radiothérapie concomitante car elles ont fait preuve d'une grande efficacité pour le traitement de certaines tumeurs. Au niveau mé-

canistique, l'oxaliplatine, un dérivé du platine de troisième génération, est capable de renforcer la cytotoxicité des rayonnements en formant des ponts inter- et intra-brin au niveau de l'ADN, amplifiant et rendant irréparables les dommages radio induits. Nous avons étudié les effets d'un traitement associant des radiations ionisantes et l'oxaliplatine sur la lignée SK-Hep1, issue d'un carcinome hépatocellulaire humain connu pour sa forte radio-résistance vis-vis des radiations « classiques ». Nous nous sommes tout particulièrement intéressés à l'induction par ce co-traitement d'un type de mort cellulaire : l'autophagie, ou mort cellulaire programmée de type II qui, à côté de l'apoptose, peut être responsable de la destruction des cellules tumorales par les RI. Deux types de radiations ont été utilisés dans nos expériences : des radiations à transfert linéique d'énergie (TLE) élevé : neutrons rapides de 65 MeV, produits au Cyclotron de Louvain-la-Neuve (Belgique), ainsi que des radiations à TLE faible : rayons X (RX) de 6 MV (Centre Paul Strauss, Strasbourg). Des analyses par cytométrie en flux ainsi que par microscopie à fluorescence ont permis de montrer que le co-traitement entraînait une importante augmentation du pourcentage de cellules autophagiques (marquage à l'acridine orange), ainsi que du nombre de cassures double-brin (CDB, immunomarquage à l'aide d'un anticorps anti-H2AX) au niveau de l'ADN. A dose égale, les neutrons génèrent plus de CDB que les RX, et provoquent plus d'autophagie.

Ces résultats indiquent donc qu'il existe une relation entre l'induction de l'autophagie et l'apparition de cassures double-brin ainsi que leur persistance après l'irradiation, et que l'oxaliplatine, surtout lorsqu'il est associé à des radiations à TLE élevé, présente un grand intérêt en tant que radiosensibilisateur.

T4.3

Involvement of VEGF and TNF α in the radiosensitizing effect of gefitinib in malignant glioma xenografts.

RT

Auteur : M. Vandamme¹, S. Pinel¹, M. Labussièrè¹, N. Monhoven², V. Bernier³, F. Plénat^{1,2}, P. Chastagner^{1,4}.

Coordonnées : 1. Laboratoire d'Histopathologie Expérimentale et Moléculaire, Faculté de Médecine, Nancy, France. 2. Service de Pathologies, CHRU, Nancy.

3. Département de Radiothérapie, Centre A. Vautrin, Nancy, France.

4. Service d'Hématologie et d'Oncologie Pédiatrique, Hôpital d'Enfants CHRU, Nancy

E-mail : marc.vand@free.fr

Résumé : Background: Due to its gene amplification, EGF-R is often constitutively activated in malignant gliomas, the deadliest of human cancer. This activation triggers multiple signal transduction pathways, leading to the activation of two transcription factors, NF- κ B and HIF-1, and favours tumor growth and tumor angiogenesis, thus contributing to gliomas radioresistance.

The aim of the present work was to determine whether HIF-1 and NF- κ B are involved in the radiosensitizing effect of gefitinib (Iressa®), an EGFR tyrosine kinase inhibitor.

Methods:Fragments of the malignant glioma TCG3 were heterotopically implanted into nude mice. Mice were randomly assigned into four groups: CTRL, radiotherapy (RT), gefitinib (GEF) and GEF+RT. Radiotherapy was delivered as daily fractions of 2 Gy. Gefitinib was injected intraperitoneally at 75 mg/kg/day. Treatments were administered for 5 consecutive days and tumours were excised 48H after the end of treatments. Expression of activated HIF-1 and NF- κ B were measured by an ELISA assay and target genes expression (VEGF and TNF α) were determined by qRT-PCR.

Results:Our results showed that the concomitant association GEF+RT produced a significant greater antitumour effect than RT or GEF alone.

Whatever the treatment, expression of activated HIF-1 was not modified while qRT-PCR experiment showed a significant decrease in VEGF mRNA level for the RT+GEF tumour group, as compared to other groups. This data was confirmed by protein expression analysis.

Considering the NF- κ B pathway, we showed that activated p50 level was significantly enhanced by fractionated radiotherapy and that gefitinib was unable to reduce radiation-induced p50 expression. However, the radiation-induced TNF α mRNA level was considerably decreased when RT was combined with GEF.

Conclusions:This study demonstrates that radiosensitizing effect of GEF is associated with a major decrease of VEGF and TNF α , but mechanisms leading to this decrease need further investigations.

Nouvelles Technologies

T4.4

Radiothérapie stéréotaxique par Cyberknife dans les tumeurs hépatiques primitives et secondaires.

RC

Auteur : Taste Hélène

Coordonnées : Centre Alexis Vautrin, Vandœuvre-lès-Nancy

E-mail : h.taste@nanc.fnclcc.fr

Résumé : **Introduction :** Pour les carcinomes hépatocellulaires (CHC) et les métastases hépatiques des cancers colorectaux (MHCCR), la chirurgie est actuellement le traitement de référence. La majorité des patients (pts) sont souvent inéligibles à ce traitement en raison d'une insuffisance hépatocellulaire, de la localisation des lésions ou des comorbidités. La radiothérapie stéréotaxique est un traitement de recours après contre indication à la chirurgie et à la radiofréquence. Le but de ce travail était d'évaluer la faisabilité, la toxicité et la réponse tumorale avec un traitement de tumeurs hépatiques primitives et secondaires par Cyberknife (CK).

Matériels et Méthodes : De Janvier 2007 à Juin 2008, 5 pts, pour lesquels ni la chirurgie ni la radiofréquence n'ont été retenus après CCP, ont été traités par Cyberknife au CAV. 4 pts avaient des MHCCR et 1 un CHC. Pour chaque pt, il a été implanté 3 à 4 fiduciaires sous repérage scanographique. Il a été réalisé un système de contention (matelas à dépression) en position de traitement suivi d'1 TDM de simulation. 3 pts (dont le CHC) ont été traité en 60Gy sur l'isodose 80% en 3 fractions sur 8j (Dmax 75Gy); et les autres ont été traitées par 37,5Gy sur l'isodose 65% en 3 frac-

tions sur 10j, (Dmax entre 57Gy). Au cours de chaque séance, un système de tracking, de synchronisation sur la respiration du pt et suivi de la cible grâce aux grains était utilisé. La réponse tumorale était évaluée selon les critères RECIST.

Résultats : Il y avait 3 H, 2 F ayant un âge médian de 73 ans (64-83). Tous les patients étaient en bon état général (OMS 1). Pour chaque patient, il s'agissait d'une lésion unique dont la taille moyenne était de 28mm (25 à 30mm). Les nombres moyens de faisceaux étaient de 168. Aucune complication sévère (Grade \geq 3) n'a été notée. Des douleurs modérées, une asthénie chez 2 patients et un épisode de vomissement chez 1 patient ont été observés. Le suivi médian était de 5 mois (1-10). Le contrôle local a été obtenu dans 80% des cas (réponse partielle 2, stabilisation tumorale 2). 1 patient est décédé (poursuite évolutive).

Conclusion : Le CK permet la prise en charge des tumeurs primitives et secondaires et doit donc s'inscrire dans l'arsenal thérapeutique au même titre que les autres traitements locaux. Pas de toxicité importante mais un suivi à plus long terme est nécessaire.

T4.5

Des quantum dots adressés via l'acide folique comme générateurs d'espèces réactives de l'oxygène en thérapie photodynamique anticancéreuse.

RF

Auteur : Morosini Vincent

Coordonnées : CAV-CRAN, Avenue de Bourgogne, F-54511 Vandœuvre-lès-Nancy

E-mail : vincent_morosini@yahoo.fr

Résumé : Les quantum dots (QDs) sont des fluorophores inorganiques constitués de nanocristaux de semi-conducteurs. Ces nanoparticules sont principalement utilisées pour l'imagerie médicale car leurs longueurs d'onde d'émission sont directement reliées à leur diamètre et que les QDs résistent mieux au photoblanchiment que les fluorophores organiques. Certains QDs, dont CdTe, peuvent également, après excitation, transférer de l'énergie aux molécules d'oxygène environnantes et permettre la formation d'oxygène singulet (1O_2) et de radicaux hydroxyle (OH \cdot). Ce type de QDs peut également être couplé à de nombreuses biomolécules qui permettent leur localisation préférentielle dans certains types de cellules, notamment tumorales. L'acide folique est un ligand capable de diriger de manière spécifique des agents thérapeutiques qui lui sont couplés vers certaines cellules tumorales surexprimant les récepteurs aux folates (RF). L'isoforme RF-a est notamment exprimée à la surface des cellules cancéreuses ovariennes, pulmonaires ou rénales. Préalablement, in vivo, chez la souris xénotreffée, nous avons démontré une amélioration de la sélectivité pour le tissu tumoral (RF+) pour une molécule photoactivable couplée à l'acide folique par comparaison au tissu sain (Gravier et al., J. Med. Chem., 2008).

Les travaux actuels visent le couplage de QDs CdTe à l'acide folique, vitamine dont le récepteur (isoforme a) est surexprimé à la surface de nombreux tissus néoplasiques (cerveau, ovaires, poumons) afin d'évaluer les potentialités offertes par les QDs en thérapie photodynamique anticancéreuse. La synthèse de ces nanoparticules, leur fonctionnalisation par l'acide folique et nos premiers résultats in vitro de cytotoxicité et de phototoxicité seront décrits.

Thème 5

Nouvelles cibles – Nouvelles molécules

PPAR

T5.1

The antidiabetic agent ciglitazone as an antitumor drug for cervical cancer treatment?

RF

Auteur : Plissonnier Marie-Laure

Coordonnées : EA3181, carcinogénèse épithéliale : marqueurs prédictifs et pronostiques, Besançon

E-mail : marie-laure.plissonnier@edu.univ-fcomte.fr

Résumé : Persistent infection by high-risk Human Papillomavirus (HPV) such as HPV16 and 18 are etiologically associated with the development of cervical cancer. E6 and E7 viral oncoproteins expression short-circuits apoptosis by disrupting p53 and pRb function respectively. These alterations confer a survival benefit to tumor cells and a resistance to anticancer treatment. Ciglitazone is a synthetic PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) ligand belonging to the thiazolidinedione (TZD) class of antidiabetic drugs. Recent evidences indicate that TZD exhibit antiproliferative, differentiation and apoptotic activities in several cancer cells. The current study investigated whether ciglitazone is able to induce apoptosis in CaSki cells and to inhibit tumor growth. In vitro, ciglitazone induced a dose-dependent cell death characterized by an increase in Sub-G1 fraction, the proteolytic cleavage of procaspase-8, procaspase-3 and PARP suggesting an apoptotic process. In regard to the caspase 8 activation, ciglitazone affected components of the TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) signaling pathway through an overexpression of death receptors DR4 and DR5 as well as TRAIL. Ciglitazone effects were not abolished by a potent PPAR γ inhibitor, GW9662, suggesting that apoptosis induced by this antidiabetic drug involved PPAR γ independent mechanisms. To examine the effect of ciglitazone on cervical cancer development, exponentially growing CaSki cells were subcutaneously injected into female nude mice and intraperitoneal injections of ciglitazone are weekly administered at 15 mg/kg for 3 weeks and tumor volumes were monitored by twice a week measurements. Consistent with our in vitro observations, treatment with ciglitazone was significantly effective in inhibiting tumor growth. In regard to our results, ciglitazone exhibits interesting antitumor effects in vitro and in vivo and could be a promising novel therapeutic approach for the treatment of cervical cancer.

T5.2

Nuclear receptor PPAR β contributes to tumor angiogenesis by inducing VEGF expression through a HPV18 E6-independent mechanism in HeLa cells.

RF

Auteur : Roche Emmanuelle

Coordonnées : EA3181 - IFR133, UFR des Sciences Médicales et Pharmaceutiques, Besançon

E-mail : emmanuelle.roche@edu.univ-fcomte.fr

VEGF secretion (Vascular Endothelial Growth Factor) by cancer cells is responsible for the tumor angiogenesis, an essential biological process required for tumor development. Epidemiologic evidences have convincingly demonstrated that persistent infection by high-risk Human Papillomavirus (HPV) such as HPV16 and 18 are associated with cervical cancer development. The presence of E6 and E7 viral oncoproteins has been shown to induce tumor angiogenesis through an up-regulation of VEGF. The nuclear receptor PPAR β (peroxisome proliferator-activated receptor β) is involved in angiogenesis as it regulates VEGF expression in several models. The current study investigated whether PPAR β activation could induce VEGF expression in HeLa (HPV18-positive) and C33-A (HPV-negative) cells and whether the presence of E6 oncoprotein could modulate this effect. We report that VEGF (mRNA and protein) was not induced by PPAR β in HPV-negative cells although the receptor was properly expressed and functional in these cells. On the contrary, it was up-regulated in HPV-positive cells. This effect was abolished by the PPAR β inhibitor sulindac sulfide or a dominant-negative PPAR β and potentiated by the RXR selective ligand 9-cis retinoic acid. This provided support for a PPAR β agonist-specific action on VEGF expression. HPV18 E6 mRNA silencing by specific siRNA did not reduce PPAR β -increased expression of VEGF in HPV-positive cells. Taken together, these results suggest that the nuclear receptor PPAR β contributes to tumor angiogenesis by inducing VEGF expression in a HPV18 E6-independent manner. The pharmacological modulation of tumor angiogenesis through the regulation of VEGF in cancer cells is a real issue in the carcinogenesis field and represents a promising strategy in the treatment of the cervical cancer.

T5.3

PPAR γ -independent effects of Thiazolidinediones in breast cancer cells.

RF

Auteur : Julie Lecomte¹, Sarra Chbicheb¹, Stéphane Salamone², Isabelle Grillier-Vuissoz¹, Sabine Mazerbourg¹, Michel Boisbrun², Yves Chapleur² and Stéphane Flament¹

Coordonnées : EA3442 Aspects cellulaires et moléculaires de la reproduction et du développement, Vandoeuvre-lès-Nancy

E-mail : stephane.flament@scbiol.uhp-nancy.fr

Résumé : The nuclear receptor Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) can be activated by natural ligands such as 15-deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J2 (15d-PGJ(2)) as well as synthetic drugs such as thiazolidinediones. The treatment of human breast cancer cell lines with PPAR γ agonists is known to have antiproliferative effects but the role of PPAR γ activation in the process remains unclear. We investigated the effects of four PPAR γ agonists, Rosiglitazone (RGZ), Ciglitazone (CGZ), Troglitazone (TGZ) and the natural agonist 15d-PGJ(2), on hormone-dependent breast cancer cell lines. EGR1 (Early Growth Response gene 1) mRNA level peaked after 3 hours of incubation with 25 mM TGZ, CGZ or 5 mM PGJ2 and then gradually decreased. RGZ

did not show this effect. The increase in EGR1 protein level in MCF7 cells was observed by immunofluorescence. TGZ, CGZ and 15d-PGJ(2) induced an inhibition of ERα signalling associated with the proteasomal degradation of ERα. Treatments that induced ERα degradation inhibited cell proliferation after 24 h. In contrast, 24 h exposure to RGZ, the most potent activator of PPARγ disrupted neither ERα signalling nor cell proliferation. PPARγ antagonists (T0070907, BADGE and GW 9662) did not block these events which still occurred in case of PPARγ silencing as well as in case of treatment with the PPARγ-inactive compound Delta2-TGZ. Interestingly, a biotinylated derivative of Delta2-TGZ appeared more potent in ERα proteolysis induction. Nevertheless, the early induction of EGR1 was not associated to the proteolysis of ERα observed later. Taken together, these results demonstrate PPARγ-independent mechanisms that could be interesting for the application of Thiazolidinedione derivatives to breast cancer therapy.

T5.4

Etude comparative d'un traitement par les ligands des récepteurs activables par les proliférateurs de peroxysomes alpha (PPARα) et gamma (PPARγ) sur le statut oxydant des cellules colorectales humaines HT29.

RF

Auteur : Marion Helle, Cathy Fiatte, Denyse Bagrel et Hervé Schohn

Coordonnées : LIMBP, UPV-Metz, Institut Jean Barriol FR CNRS 2843, Metz

E-mail : marion.helle@live.fr, schohn@univ-metz.fr

Résumé : Les récepteurs activables par les proliférateurs de peroxysomes (PPAR) participent à la différenciation des cellules coliques et sont impliqués dans les processus de cancérogenèse et/ou de progression tumorale.

Plusieurs travaux ont montré que les ligands de PPARα ou γ ont une action anti-tumorale sur les cellules colorectales humaines. Cet effet résulterait, soit de l'activation des récepteurs, soit de mécanismes indépendants de la voie des PPAR.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les effets de ligands synthétiques de PPARα (fénofibrate) et de PPARγ (pioglitazone et rosiglitazone) sur le statut oxydant des cellules HT29 dérivant d'un adénocarcinome colique humain, traitées pendant 24 h, 48 h ou 5 jours, par chaque drogue et/ou par un antagoniste de PPARα (MK886) ou de PPARγ (GW9662). Le stress oxydant généré dans les cellules a été évalué par la mesure d'espèces réactives et l'impact de chaque traitement a été estimé sur la viabilité des cellules, leur distribution dans le cycle cellulaire et le nombre de cellules en apoptose/nécrose. Enfin, nous avons dosé le contenu en GSH et l'activité de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme du glutathion.

Nous montrons que les traitements diminuent la croissance des cellules et modifient la répartition des cellules dans le cycle cellulaire. Le taux de monoxyde d'azote augmente lorsque les cellules HT29 sont traitées par la pioglitazone ou le fénofibrate alors que le traitement par la rosiglitazone n'a aucun effet. Le traitement des cellules HT29 par les différents agonistes entraîne une chute du contenu en glutathion ; cette diminution n'est pas forcément

atténuée lorsque les cellules sont traitées avec l'antagoniste correspondant.

Nous concluons que les traitements par le fénofibrate ou les thiazolidinédiones entraînent la génération d'un stress oxydant et modifient le statut oxydant des cellules HT29, via des mécanismes PPAR-dépendant et PPAR-indépendant.

Téломérase

T5.5

Synthesis and biological evaluation of new 4,5-disubstituted acridine derivatives as potential telomerase G-quadruplex stabilizing agents.

RF

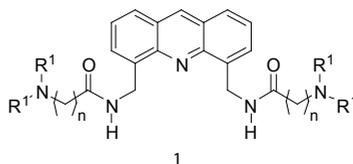
Auteur : Laronze-Cochard Marie

Coordonnées : UMR CNRS 6229, ICMR «Institut de Chimie Moléculaire de Reims» ; IFR 53 «Biomolécules» ; Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims

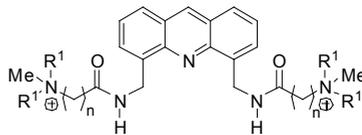
E-mail : marie.cochard@univ-reims.fr

Résumé : In continuation of our interest in the synthesis of new polycyclic condensed heterocycles, we focused on those containing an acridine moiety because they proved to possess many pharmacological properties particularly in the cancer area (1).

We disclose here the synthesis of new 4,5-disubstituted acridines 1 and 2 bearing various aminoalkyl chains (n = 1, 2 ou 3). Acridines 1 were prepared via a multistep reaction starting from acridine (2,3,4,5). Quaternization of compounds 1 gave the corresponding N-methylated acridinium salts 2.



1



2

Biological evaluation of acridine derivatives 1 and 2 in telomeric DNA maintenance, a new target in cancer chemotherapy research will also be reported.

References:

- (1) P. Belmont, J. Bosson, T. Godet, M. Tiano, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.*, 2007, 7, 139-169.
- (2) F. Hess, E. Cullen, K. Grozinger, *Tetrahedron Lett.*, 1971, 12, 2591-2594.
- (3) D. G. Carole, D. M. Michel, C. Julien, D. Florence, N. Anna, J. Séverine, D. Gérard, T.-D. Pierre, *Bioorg. Med. Chem.*, 2005, 13,

5560-5568.

(4) R. J. Harrison, S. M. Gowan, L. R. Kelland, S. Neidle, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1999, 2463-2468.

(5) Y.-M. Kim, « Doctorat de l'Université de Reims », December 18th 2006.

Antioxydants

T5.6

Triphényl S-glutathion : évaluation in vitro et effet sur la résistance de cellules cancéreuses mammaires d'un puissant inhibiteur de la glutathion S-transférase p humaine.

RF

Auteur : Hélène Albert, Eric Battaglia, Dan Bernardi, Gilbert Kirsch et Denyse Bagrel

Coordonnées : LIMBP, UPV-Metz, Institut Jean Barriol FR CNRS 2843, Metz

E-mail : bagrel@univ-metz

Résumé : Le glutathion (GSH) et ses protéines associées sont impliqués dans les cancers, en favorisant la prolifération cellulaire, la lutte contre un stress oxydant et la détoxification de xénobiotiques. Les enzymes du système du GSH représentent de ce fait des cibles thérapeutiques potentielles. Le triphényl S-glutathion (triP-GSH) a été synthétisé et son effet a été évalué sur les activités enzymatiques des glutathion S-transférases (GST), glutathion réductase (GR), glutathion peroxydases (Gpx) et -glutamyl transférase (GGT) issues d'homogénats de lignées cellulaires d'adénocarcinome mammaire humain. Le triP-GSH n'exerce aucun effet sur les activités GR et GGT. Par contre, il inhibe l'activité GST ($IC_{50} \approx 2 \mu\text{M}$), ainsi que, dans une moindre mesure, l'activité Gpx ($IC_{50} \approx 50 \mu\text{M}$). Les inhibiteurs de GST et notamment de la GSTP₁₋₁ méritent une attention particulière en raison de la surexpression de cette isoenzyme dans la plupart des tumeurs et du phénotype de résistance multiple aux médicaments qu'elle leur confère. Le mécanisme d'inhibition du triP-GSH a alors été précisé à l'aide de GSTP₁₋₁ humaine purifiée. Une puissante inhibition compétitive vis-à-vis du GSH ($K_i = 0,26 \pm 0,01 \mu\text{M}$) et non compétitive vis-à-vis du CDN8 ($K_i = 0,94 \pm 0,02 \mu\text{M}$) a été observée. De plus, nous avons montré que le triP-GSH n'était pas dégradé par la GGT d'un homogénat de cellules H5-6 après une heure d'incubation. Par ailleurs, la cytotoxicité du triP-GSH a été évaluée sur des lignées d'adénocarcinomes mammaires : MCF-7, VCREMS et MDA-MB231. Le triP-GSH s'est révélé être très peu cytotoxique ($IC_{50} > 800 \mu\text{M}$), probablement de par son incapacité à traverser la membrane des cellules. Une modification structurale visant à améliorer sa perméabilité membranaire semble donc nécessaire dans l'optique de sensibiliser les cellules tumorales à des agents anticancéreux.

T5.7

Synthèse et évaluation du potentiel antioxydant de nouveaux analogues de benzophénones.

RF

Auteur : T Tzanova^{ac}, M Gerova^b, O Petrov^b, M Karaivanova^a, D

Bagrel.

Coordonnées : ^a Université de Médecine de Sofia, Faculté de Pharmacie, Département de Pharmacologie et Toxicologie, Bulgarie

^b Université de Sofia, St. Kliment Ohridski, Faculté de Chimie, Département de Chimie Organique Appliquée, Bulgarie

^c Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Biochimie Pharmacologique, EA 3940, Université Paul Verlaine – Metz, FR CNRS 2843, UFR SciFA, France

E-mail : tzanova@univ-metz.fr; bagrel@univ-metz.fr; mkaivaivanova2001@yahoo.com

Résumé : Une stratégie efficace dans le traitement des cancers suppose l'utilisation d'une ou plusieurs cibles spécifiques de la cellule cancéreuse, tout en évitant le maximum d'effets secondaires. Dans cet objectif, différentes stratégies sont possibles, comme par exemple l'optimisation de la structure de la molécule, la mise en place de thérapies combinées et l'utilisation de substances chimioprotectrices. De nouvelles benzophénones contenant un noyau 1,3-thiazole ont été synthétisées et évaluées in vitro au sein de nos laboratoires. Les propriétés antioxydantes de trois dérivés nommés 6a-c ont été mises en évidence et comparées à celles du Trolox. Le potentiel antioxydant a été déterminé in vitro à l'aide de la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et par cytométrie en flux sur la lignée d'adénocarcinome mammaire humain MCF-7, la lignée épithéliale mammaire non cancéreuse hTERT-HME1, et les myoblastes cardiaques H9c2. Le dérivé 5-(2,5-dihydroxybenzoyl)-2(3H)-benzothiazolone (6c) montre une activité antioxydante importante et une faible cytotoxicité. Il diminue le niveau d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) générées par tert-butyl hydroperoxide dans les trois lignées. La production d'ERO étant incriminée dans les mécanismes de toxicité cardiaque des anthracyclines, les propriétés protectrices de 6c mises en évidence dans les cardiomyoblastes H9c2 permet d'envisager des perspectives thérapeutiques intéressantes lors de traitements anticancéreux générateurs de stress oxydant.

Phosphatases

T5.8

Evaluation biologique de composés organosoufrés naturellement présents dans l'ail comme inhibiteurs des phosphatases Cdc25.

RF

Auteur : Elodie Viry, Awais Anwar, Claus Jacob, Gilbert Kirsch et Denyse Bagrel

Coordonnées : LIMBP, UPV-Metz, Institut Jean Barriol FR CNRS 2843, Metz

E-mail : bagrel@univ-metz.fr

Résumé : L'ail (*Allium sativum*) est utilisé comme remède naturel à de nombreuses pathologies depuis plusieurs centaines d'années. Des études épidémiologiques ont mis en évidence la corrélation entre la consommation d'ail et une diminution de la fréquence d'apparition de certains cancers (estomac, intestin...). De plus, des effets antiprolifératifs, associés à une induction de la mort cellulaire et/ou un arrêt du cycle cellulaire, ont été confirmés lors d'études récentes utilisant des modèles cellulaires et

animaux de cancer. Ces effets bénéfiques de l'ail ont pu être attribués à la présence de composés organosoufrés. Cependant leurs mécanismes d'action cellulaire restent encore méconnus.

Afin d'élucider le mode d'action de ces substances soufrées, plusieurs molécules naturellement présentes dans l'ail ont été synthétisées puis évaluées pour leurs capacités inhibitrices des phosphatases Cdc25. En effet, ces phosphatases sont des enzymes clés qui interviennent dans la progression du cycle cellulaire en régulant l'activité des kinases dépendantes des cyclines par une déphosphorylation très spécifique. Les Cdc25 sont des cibles thérapeutiques intéressantes car leur surexpression, notamment dans le cancer du sein, a pu être corrélée au développement de résistance à certains agents anticancéreux ainsi qu'à un mauvais pronostic. Un premier criblage *in vitro* en présence de l'isoforme A de Cdc25 purifiée, réalisé sur une série de 7 composés, a montré que le pouvoir inhibiteur des diallyl sulfures testés augmente avec le nombre d'atomes de soufre présents dans la molécule (l'inhibition de l'activité Cdc25A passe de 0 à 81 % en présence de 100 μM de molécules contenant un et quatre atomes de soufre respectivement). Les effets cellulaires du composé le plus actif de la série, le diallyl tétrasulfure, ont été évalués sur la lignée d'adénocarcinome mammaire humain MCF-7 et mettent en évidence un effet cytotoxique dose- et temps-dépendant (CI50 = 73 μM , 37 μM et 21 μM après 24h, 48h et 72h de traitement respectivement).

T5.9

Stress oxydant et cancer du sein : implication concomitante du système thiorédoxine et des phosphatases Cdc25.

RF

Auteur : Adeline Beillerot, Eric Battaglia et Denyse Bagrel

Coordonnées : LIMBP, UPV-Metz, Institut Jean Barriol FR CNRS 2843, Metz

E-mail : beillerot@univ-metz.fr et bagrel@univ-metz.fr

Résumé : Les phosphatases Cdc25 sont des enzymes clés dans la progression du cycle cellulaire. Dans les cellules de mammifères, trois isoformes (A, B et C) ont été identifiées. De récentes études *in vitro* montrent que lors d'un stress oxydant modéré, il se forme un pont disulfure intramoléculaire au sein des Cdc25 B et C conduisant à leur inactivation. La restauration de leur activité fait intervenir le système Thiorédoxines/Thiorédoxines réductases (Trx/TrxR). Sachant que les Cdc25 et les Trx/TrxR peuvent être surexprimés dans le cancer du sein et que les cellules cancéreuses présentent souvent un statut redox plus pro-oxydant que les cellules normales, l'action du système Trx/TrxR au niveau des Cdc25 pourrait donc être essentielle pour la progression tumorale.

Pour mieux comprendre cette interaction nous avons étudié l'inhibition *in vitro* des trois isoenzymes de Cdc25 par un stress oxydant produit par le peroxyde d'hydrogène. Les Cdc25 A, B et C présentent une sensibilité comparable à cet agent oxydant (CI50 respectives : Cdc25A, 100 μM ; Cdc25B, 75 μM ; Cdc25C, 300 μM). De plus, nous avons testé la réactivation de Cdc25A par le système Trx/TrxR et par un agent réducteur, le TCEP. Dans les deux cas, le recouvrement de l'activité est total. L'étude de l'interaction entre ces protéines, *in cellulo*, est actuellement en cours dans la lignée d'adénocarcinome mammaire humain, MCF7. L'activité

des Cdc25 est mesurée dans des cellules soumises à un stress oxydant modéré et dans lesquelles l'activité des Trx ainsi que leur niveau d'expression varient. Nous utilisons pour cela un inhibiteur de TrxR, le GoPI-Sugar, et des vecteurs plasmidiques permettant de surexprimer soit la Trx1 cytosolique active soit un dominant négatif par transfection.

Les résultats attendus pourront nous permettre de choisir la meilleure cible à inhiber notamment lors de l'utilisation de molécules génératrices d'espèces réactives de l'oxygène comme la doxorubicine par exemple, qui est largement utilisée dans le traitement du cancer du sein.

Angiogenèse

T5.10

Implication des phosphodiesterases spécifiques des nucléotides cycliques (PDEs) dans l'angiogenèse et effets anti-angiogéniques des inhibiteurs de PDE2 et PDE4.

RF

Auteur : Lugnier Claire

Coordonnées : CNRS UMR 7175, Strasbourg

E-mail : claire.lugnier@pharma.u-strasbg.fr

Résumé : Les phosphodiesterases spécifiques des nucléotides cycliques (PDEs) jouent un rôle primordial dans la régulation de la signalisation intracellulaire en contrôlant spécifiquement et localement, en aval des RCPG et en amont des protéines kinases, l'hydrolyse des nucléotides cycliques (AMPc et GMPc). Elles comprennent 11 familles avec de multiples variants (>100 protéines), qui se différencient par leur spécificité de substrat, leur distribution cellulaire, subcellulaire et leur régulation. Ainsi, les PDEs permettent un contrôle fin et compartimentalisés des niveaux d'AMPc. Notre équipe, reconnue dans le domaine des PDEs cardiovasculaires, et plus particulièrement des cellules endothéliales a montré que l'inhibition de PDE4 dans les BAECs empêche l'apparition du phénotype prolifératif auquel est associé un changement d'expression des PDEs. Ces résultats suggèrent fortement que les PDEs pouvaient participer au contrôle de l'angiogenèse. Dans ce contexte, pour étudier l'implication des PDEs dans l'angiogenèse, nous avons utilisé les HUVECs en culture primaire, modèle *in vitro* d'angiogenèse, le modèle *in vivo* CAM et le modèle *in vivo* de tumorigenèse induite par les cellules BF16/10 chez la souris C57BL/6N. Les résultats montrent, dans les HUVECs stimulées par le VEGF, que seules les PDE2 et PDE4 sont surexprimées (ARNm, protéines et activités) que les inhibiteurs de PDE2 et PDE4 augmentent l'AMPc, inhibent la migration et la prolifération des HUVECs, inhibent la progression du cycle cellulaire des HUVECs en inhibant la phosphorylation de ERK, diminuant la cycline D1 et augmentant p27kip1. Les inhibiteurs de PDE2 et PDE4 inhibent l'angiogenèse sur le modèle CAM et inhibent la croissance de tumeur *in vivo*. L'ensemble de ces travaux révèle que les PDE2 et PDE4 sont spécifiquement impliquées dans l'angiogenèse et représentent en aval des récepteurs de nouvelles cibles thérapeutiques.

T5.11

Nouvelle famille de molécules inhibitrices de l'AP-N ou CD13, enzyme intervenant dans le processus d'angiogenèse tumorale.

RF

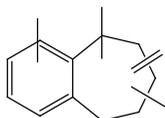
Auteur : Schmitt Céline

Coordonnées : Organisme :Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Mulhouse (ENSCMu)- UMR 7015- Laboratoire de Chimie Organique et Bioorganique (COB), Mulhouse

E-mail : celine.schmitt@uha.fr

Résumé : Notre cible est une aminopeptidase particulière : l'Aminopeptidase N (AP-N ou CD13). L'AP-N est une enzyme protéolytique, surexprimée sur certaines cellules cancéreuses et sur les cellules endothéliales angiogéniques. Elle est considérée aujourd'hui comme un régulateur important de la morphogenèse endothéliale. Ses inhibiteurs sont actifs dans des modèles classiques d'angiogenèse et de migrations cellulaires. Non cytotoxiques, ils représentent une approche intéressante dans le développement de nouvelles thérapies.

Notre objectif a été de concevoir, synthétiser et évaluer des inhibiteurs puissants et spécifiques de l'AP-N. Une nouvelle famille de composés organiques très puissants a été évaluée in vitro sur l'AP-N purifiée. Ce sont des composés de type amino-benzosubéroné, dont la plupart des valeurs de Ki sont nanomolaires, le meilleurs inhibiteurs possédant un Ki de 60 picomolaire. Ces structures sont beaucoup plus puissantes et sélectives que la bestatine, utilisée comme standard dans ce domaine. Nous possédons à ce jour les inhibiteurs de l'AP-N les plus puissants.



Nous avons montré que nos inhibiteurs empêchent, in vitro, l'organisation des cellules endothéliales (HUVEC) en tubes capillaires lorsqu'elles sont déposées sur une matrice artificielle (type Matrigel). Les concentrations d'inhibiteur utilisées sont bien inférieures à la dose cytotoxique (CD50) déterminée auparavant sur cette même lignée cellulaire.

Les premiers études in vivo sur des modèles de cellules tumorales xénotreffées sur la souris nue sont en cours.

Récepteurs nucléaires

T5.12

Rôle d'une nouvelle classe de récepteurs des androgènes mutés dans la progression du cancer de la prostate.

RF

Auteur : Siebert Christelle

Coordonnées : Université Louis Pasteur/Faculté de Médecine/EA3430 « Signalisation et cancer de la prostate », Strasbourg

E-mail : christelle.siebert@gmail.com

Tél. : 03.90.24.54.53

Résumé : A l'aide d'un test fonctionnel du récepteur des androgènes réalisé chez la levure, une nouvelle classe de récepteurs des androgènes mutés a été mise en évidence dans 13% d'échantillons de cancers de la prostate localisés et dans 80% de cancers de la prostate métastatiques. Il s'agit de mutations non-sens conduisant à l'apparition d'un codon stop prématuré entraînant la perte du domaine de liaison au ligand.

Ces récepteurs des androgènes tronqués montrent une activité transcriptionnelle autonome, ligand-indépendante et différente de celle du récepteur sauvage.

Les études récentes menées au laboratoire ont permis de mettre en évidence des actions paracrines des cellules cancéreuses prostatiques exprimant ce type de récepteur des androgènes tronqué, et une interconnexion avec des voies de signalisation conduisant à l'activation des facteurs de transcription NFAT et AP-1.

Des expériences de transcriptomique, de RT-PCR en temps réel, d'immunofluorescence, de Western Blot et d'ELISA ont été réalisées afin de mettre en évidence l'impact de ces récepteurs des androgènes tronqués sur l'expression de gènes impliqués dans la progression du cancer de la prostate.

Les résultats obtenus jusqu'à maintenant montrent que la perte du domaine de liaison au ligand du récepteur des androgènes conduit à un facteur de transcription ligand-indépendant dont les activités pourraient être liées à trois étapes fondamentales de la progression du cancer de la prostate, l'invasion tumorale, les métastases osseuses, et l'échappement à la privation androgénique.

A terme ces études pourront conduire au développement de nouvelles armes thérapeutiques ciblant les voies de signalisation activées par ces récepteurs des androgènes tronqués.

T5.13

Side-chain fluorine atoms of non-steroidal vitamin d3 analogs stabilize helix 12 of the vitamin d receptor.

RF

Auteur : G Eelen^{1,5}, N Valle^{2,5}, Y Sato³, N Rochel³, P Antony³, L Verlinden¹, P De Clercq⁴, D Moras³, R Bouillon¹, A Muñoz² and A Verstuyf

Coordonnées :

¹ Laboratorium voor Experimentele Geneeskunde en Endocrinologie, K.U. Leuven, B-3000 Leuven, Belgium;

² Instituto de Investigaciones Biomédicas «Alberto Sols», Consejo Superior de Investigaciones Científicas - Universidad Autónoma de Madrid, E-28029 Madrid, Spain;

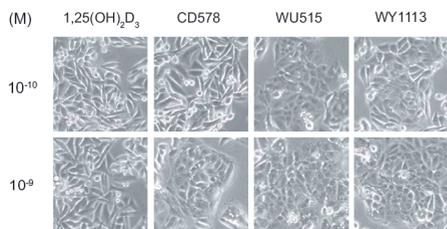
³ IGBMC, Département de Biologie et de Génomique Structurales, Illkirch F-67400, France;

⁴ Vakgroep voor Organische Chemie, Universiteit Gent, B-9000 Gent, Belgium.

⁵ These authors contributed equally

Résumé : Vitamin D nuclear receptor (VDR) which acts as a ligand-dependent transcriptional regulator, is an important target for multiple clinical applications like inflammation, osteoporosis

and cancer. 1,25(OH)₂D₃, the biologically most active form of vitamin D₃ or its synthetic analogs bound to VDR directs genomic outcomes preferentially as a heterodimer with its obligate partner, retinoid acid X receptor on response element located in the promoter regions of target genes. This specific binding modulates transcription via the interaction with, a multi-component proteins complex which comprises functional co-activators or repressors, and the basal transcriptional machinery. Side chain fluorination is often used to generate analogs of 1,25(OH)₂D₃ which are less susceptible to metabolic degradation by 24-hydroxylase. We report that fluorinated non-steroidal analogs CD578, WU515 and WY1113 display an increased pro-differentiating action on the human SW480-ADH colon cancer cells (see figure below), which correlates with both stronger induction of VDR – coactivator interactions, repression of β -catenin/TCF activity and their target genes, such as the oncogene c-MYC. Co-crystallization of analog CD578 together with the zebrafish (z)VDR and an SRC-1 coactivator peptide showed that, the fluorine atoms of CD578 make additional contacts with Val444 and Phe448 of the activation helix 12 (H12) of the zVDR and with Leu440 of the H11-H12 loop. Consequently, the SRC-1 peptide makes significantly more contacts with the VDR - CD578 complex than with the VDR - 1,25(OH)₂D₃ complex. These data show that fluorination not only affects degradation of an analog but can also have a direct effect on H12 stabilization. We postulate that these additional contacts which favor coactivator recruitment thereby explaining the increased biological potency of the analog compared to those induced by the natural ligand.



Matrice extracellulaire

T5.14

New MMP inhibitors, analogues of Ilomastat with a bromobiphenylsulfonylhydrazide as zinc binding group.

RF

Auteur : Bourguet Erika

Coordonnées : Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR), CNRS UMR 6229, Faculté de Pharmacie, Reims

E-mail : erika.bourguet@univ-reims.fr

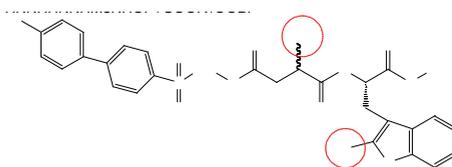
Résumé : Matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of zinc containing enzymes involved in the degradation, remodelling of extracellular matrix proteins and tumor progression. Thus, the development of synthetic MMP inhibitors possessing a good potency and selectivity constitutes an important synthetic target.[1]

The aim of our investigation is to synthesize structural analogues

of Ilomastat focusing on:

- the modifications of P2' sites and developing new ZBG (zinc binding group) function,[2]
- the modifications of P1' sites with an unsaturation.[3,4]

We have synthesized and evaluated the MMP inhibitory activity of Ilomastat derivatives having a bromobiphenylsulfonylhydrazide group as ZBG.



These analogues are tested in vitro for inhibition of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-14 using specific quenched fluorescent substrates. Our inhibitors showed a selectivity for Gelatinases A and B.[5]

[1] Bourguet, E. et al. *Anti-cancer Agents Med. Chem.* Submitted

[2] a) Augé, F. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, 13, 1783-1786; b) PhD Thesis LeDour, G. 2005.

[3] Marçq, V. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, 13, 2843-2846.

[4] Moroy, G. et al. *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15(14), 4753-4766.

[5] LeDour, G. et al. *Bioorg. Med. Chem.* Submitted

T5.15

TIMP-1 : Cible thérapeutique potentielle pour le traitement de l'érythroleucémie ?

RF

Auteur : Lambert Elise

Coordonnées : UMR CNRS 6237 MEDyC, Reims

E-mail : elise.lambert@univ-reims.fr

Tél. : 03 26 91 32 69

Résumé : Les Inhibiteurs Tissulaires des Métalloprotéinases Matricielles (TIMPs) contrôlent l'activation et l'activité protéolytique des Métalloprotéinases Matricielles (MMPs) mais possèdent d'autres effets biologiques indépendants de l'inhibition des MMPs. Le TIMP-1, de par son activité anti-apoptotique et mitogénique, pourrait être aujourd'hui étudié comme un facteur pronostic dans différents types de cancers. Le but de nos travaux est l'étude du rôle du TIMP-1 endogène dans le développement hématopoïétique des cellules normales et cancéreuses.

Dans ce travail, l'expression du TIMP-1 a tout d'abord été quantifiée par dosage ELISA. Nous avons ensuite étudié, par la technique d'interférence à l'ADN, l'effet du TIMP-1 endogène sur la survie, la prolifération et la différenciation érythroïde des cellules UT-7 et des progéniteurs CD34+ issus de sang de cordon ombilical humain. La survie est évaluée par cytométrie en flux (double marquage Annexine-V-FLUOS/Iodure de Propidium), la prolifération par des tests Uptiblu et par analyse de l'expression de la protéine du cycle cellulaire pRb et la différenciation par expression des globines a et b, des antigènes de surface CD36, CD71 et

GPA et par analyse de la morphologie cellulaire par coloration au May-Grünwald-Giemsa.

Nous montrons que la lignée cellulaire érythroleucémique UT-7 exprime 6 fois plus de TIMP-1 en culture que les cellules hématopoïétiques en cours de différenciation érythroïde. Après validation des siRNA TIMP-1, nous montrons que l'extinction d'expression du TIMP-1 dans les cellules UT-7 conduit à (1) une diminution de la survie des cellules leucémiques, (2) une inhibition de la prolifération et (3) ne semble pas moduler la différenciation érythroïde. Les résultats obtenus avec les progéniteurs hématopoïétiques normaux CD34+ semblent différents.

L'ensemble de nos résultats semblent suggérer que le TIMP-1 pourrait être une cible thérapeutique dans le développement de molécules anti-leucémiques.

T5.16

Contrôle de la progression tumorale par des matrikines dérivées des collagènes de membrane basale.

RF

Auteur : Monboisse Jean Claude

Coordonnées : CNRS UMR 6237, Univ. Reims Champagne Ardenne, Reims

E-mail : jc.monboisse@univ-reims.fr

Résumé : La progression tumorale comprend diverses étapes mettant en jeu des interactions entre les cellules cancéreuses ou les cellules endothéliales et les macromolécules de la matrice extracellulaire environnante, et plus particulièrement des membranes basales. Certains domaines des collagènes de membrane basale (collagènes IV, XV, XVIII et XIX), libérés par protéolyse ménagée, les matrikines, peuvent contrôler ces différentes étapes en inhibant les cascades protéolytiques intervenant dans la migration des cellules cancéreuses ou l'angiogenèse tumorale. Parmi ces matrikines, nous avons démontré que le domaine C-terminal de la tumstatine, domaine NC1 de la chaîne $\alpha 3$ du collagène de type IV, inhibe la progression tumorale dans un modèle de mélanome in vivo chez la souris. Cette inhibition s'exerce à la fois sur la prolifération, la migration des cellules cancéreuses et sur leurs propriétés invasives par diminution de l'expression et de l'activation des métalloprotéinases matricielles (MMPs) et du système d'activation de la plasmine. Un analogue structural de cette séquence peptidique, le cyclopeptide YSNSG exerce une forte activité anti-tumorale et anti-angiogénique in vitro et in vivo dans le modèle de mélanome murin. De même, le domaine NC1 de la chaîne $\alpha 4(IV)$ de ce collagène exerce une forte activité anti-tumorale. Sa surexpression, induite in vivo chez la souris, par électrotransfert d'ADN, induit une forte réduction du volume tumoral, dans le modèle de mélanome.

L'ensemble de ces résultats montrent que des domaines de macromolécules de la matrice extracellulaire peuvent exercer un contrôle de la progression tumorale et que certains analogues structuraux, dérivés de ces matrikines, sont susceptibles de développer comme agents anti-cancéreux potentiels.

T5.17

Le lumicanne humain recombinant inhibe le développement des métastases pulmonaires induites par les cellules de mélanome B16F1.

RF

Auteur : Brezillon Stéphane

Coordonnées : Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CNRS UMR 6237, URCA, Reims

E-mail : stephane.brezillon@univ-reims.fr

Résumé : Dans le modèle de tumeurs expérimentales induites par injection sous-cutanée de cellules de mélanome de souris B16F1 transfectées ou non avec du lumicanne humain recombinant chez la souris immunodéprimée, nous avons démontré les propriétés anti-tumorales du lumicanne (Vuillermoz et al, 2004). Le but de la présente étude était d'analyser le développement des métastases pulmonaires après injection dans la veine caudale des cellules B16F1 transfectées ou non avec du lumicanne humain recombinant. Nos travaux montrent une inhibition par le lumicanne recombinant du nombre et de la taille des métastases. Cette inhibition du développement des métastases pulmonaires s'expliquerait par une augmentation de l'apoptose au sein des cellules tumorales des nodules métastatiques révélée par l'immunomarquage des marqueurs spécifiques (PARP clivée, Caspase 3 clivée) alors que la prolifération des cellules tumorales (cycline D1) reste inchangée. L'expression du VEGF par les cellules tumorales semble diminuée. Il a été montré que le lumicanne présente des propriétés angiostatiques (Albig et al, 2007). L'angiogenèse au sein des métastases pulmonaires a été étudiée par immunomarquage d'un marqueur spécifique des cellules endothéliales, vWF, doublée d'une coloration histologique au TVL. Les résultats préliminaires montrent une faible diminution du nombre de vaisseaux dans les nodules métastatiques par rapport au groupe contrôle. In vitro, les propriétés d'un fragment peptidique synthétique du lumicanne, choisi par homologie de séquence avec un fragment peptidique de la décorine aux propriétés angiostatiques (Sulochana et al, 2005), a été testé sur des cellules endothéliales vasculaires ombilicales humaines (HUVEC). Nos résultats préliminaires montrent une faible inhibition (-15%) de la formation de pseudotubes dans le Matrigel® en présence de ce peptide (100 μ M) par rapport au peptide scramble.

T5.18

Le peptide dérivé du LRR 9 du lumicanne humain inhibe la migration du mélanome.

RF

Auteur : Zeltz Cédric

Coordonnées : CNRS UMR 6237, Reims

E-mail : cedric.zeltz@wanadoo.fr

Résumé : Le mélanome est le cancer cutané le plus grave en raison de son potentiel métastatique élevé et son pronostic redoutable. Le lumicanne est une glycoprotéine présente au sein de la matrice extracellulaire dermique. Il appartient à la famille des petits protéoglycannes riche en leucine (SLRP) et est constitué de onze régions riches en leucine (LRR). Aux cours de précédents travaux réalisés dans notre laboratoire, il a été montré que le

lumicanne humain recombinant obtenu à partir d'un système procaryote et correspondant au core protéique de 37kDa, présente des propriétés anti-tumorales en augmentant l'adhésion et en diminuant la migration des cellules A375 via l'intégrine $\alpha 2\beta 1$ (D'Onofrio et al., 2008). Dans la présente étude, pour nous rapprocher des conditions physiologiques au niveau de la peau, nous avons produit du lumicanne glycosylé (57kDa) dans un système eucaryote HEK 293-Ebna et testé ses propriétés anti-tumorales. Le lumicanne glycosylé augmente l'adhésion et inhibe la migration des cellules A375, ce qui nous permet de valider les résultats obtenus à partir du lumicanne recombinant bactérien. Ces résultats démontrent que la présence de chaînes glycosylées n'altère pas les propriétés anti-tumorales du lumicanne. Nous avons par la suite essayé de déterminer la séquence peptidique active du lumicanne. Ainsi, à partir de différents fragments recombinants du lumicanne, nous avons déterminé la présence de deux sites actifs : une région active qui inhibe la migration et une deuxième région qui favoriserait l'adhésion. Nous nous sommes focalisés sur la région qui contribuerait à l'inhibition de la migration. Un peptide correspondant au LRR 9 du lumicanne a été synthétisé. Ce peptide inhibe de manière significative la migration de deux lignées de mélanome humain, A375 ($p < 0.001$) et HT144 ($p < 0.05$) en chambre de Boyden modifiée. Ces résultats ont été confirmés sur une lignée de mélanome murin B16F1 à l'aide d'un test de blessure/cicatrisation. Le peptide LRR9 n'a pas d'effet significatif sur l'adhésion ce qui confirme l'existence d'un deuxième site responsable de l'augmentation de l'adhésion des cellules de mélanome sur le lumicanne. D'autres travaux sont nécessaires pour préciser la séquence active impliquée dans l'adhésion.

T5.19

The YSNSG cyclopeptide derived from Tumstatin, the NC1 domain of the $\alpha 3(IV)$ collagen chain, inhibits tumor angiogenesis by down-regulating endothelial cell migration.

RF

Auteur : Sylvie Brassart-Pasco

Coordonnées : CNRS UMR 6237, Univ. Reims Champagne Ardenne, Reims

E-mail : sylvie.brassart-pasco@univ-reims.fr

Résumé : Tumor angiogenesis plays a crucial role in the growth of solid tumors by providing nutrients and oxygen to tumor cells and by promoting metastasis. Tumor angiogenesis implies endothelial cell activation by various pro-angiogenic factors and their migration. We previously demonstrated that Tumstatin, the NC1 domain of the $\alpha 3(IV)$ collagen chain, inhibited tumor progression through a specific sequence sharing a β -turn crucial for biological activity. We designed the YSNSG cyclopeptide with a constrained β -turn on the YSNSG residues, more stable in vivo than the corresponding native linear peptide CNYNSNS. In an in vivo experimental melanoma model in mice, intraperitoneal administration of the YSNSG cyclopeptide inhibited in vivo tumor neovascularization. In vitro, the YSNSG cyclopeptide had no effect on endothelial cell proliferation but inhibited cell migration in a wound model. This inhibition was mediated by a decrease in proMT1-MMP activation and a reorganization of its cellular distribution as well as a decrease in u-PA and u-PAR expression. The cyclopeptide inhibited

$\beta 1$ -integrin distribution in endothelial cell lamellipodia, induced a decrease of the phosphorylated focal adhesion kinase (p125FAK Y861), disorganized F-actin stress fibers and decreased the number of lamellipodia, resulting in a non migratory phenotype of endothelial cells. These results confirm the YSNSG cyclopeptide as a potent anti-tumor agent, through both the inhibition of tumor cell invasive properties and anti-angiogenic activity.

T5.20

Le complexe récepteur de l'élastine : mécanisme de transduction d'une nouvelle cible thérapeutique potentielle.

RF

Auteur : ¹Anthony Rusciani, ¹Laurent Duca, ¹Aurore Chatron-Collet, ²Benoit Cantarelli, ²Hervé Sartelet, ²Richard Le Naour, ¹Hélène Bobichon, ¹Dominique Ploton, ¹Laurent Martiny et ¹Laurent Debelle

Coordonnées : ¹UMR CNRS 6237 MEDyC, Laboratoire Signalisation et Récepteurs Matriciels (SiRMA) et Laboratoire Médicament, Dynamique Intracellulaire, Architecture Nucléaire (MÉDIAN), UFR Sciences Exactes et Naturelles et UFR Pharmacie, Université de Reims Champagne Ardenne ;

²EA Inflammation et Immunité de l'appareil respiratoire, UFR Médecine, Université de Reims Champagne Ardenne.

Reims

E-mail : laurent.duca@univ-reims.fr; anthony.rusciani@etudiant.univ-reims.fr

Tél. : 03.26.91.89.39

Résumé : L'élastine est le polymère de la matrice extracellulaire responsable de la résilience des tissus tels que la peau ou les poumons. Sa dégradation produit des peptides doués d'activités biologiques capables d'influencer diverses fonctions biologiques en lien avec le développement tumoral tant du point de vue de la réaction stromale que de la tumeur elle-même. Nous avons récemment montré que ces peptides induisent le développement de mélanomes dans un modèle murin de progression tumoral, démontrant leur importance in vivo et le fait que leur récepteur peut être considéré comme une nouvelle cible thérapeutique potentielle. Ce récepteur est un hétérotrimère constitué d'une sous-unité liant les peptides d'élastine nommée EBP et de deux sous-unités associées à la membrane nommées PPCA et Neu-1. Nous avons précédemment montré que le récepteur transduit ses signaux via l'activité sialidase de sa sous-unité Neu-1. Nous montrons ici par microscopie confocale que l'EBP est localisé dans les radeaux lipidiques de la membrane plasmique. La déplétion des cellules en glycosphingolipides montre que cette fraction des radeaux est essentielle pour son activité de transduction. Un radiomarquage des lipides cellulaires nous a permis de mettre en évidence que la stimulation du récepteur induit l'hydrolyse du ganglioside GM3 et l'augmentation du taux de lactosylcéramide, certainement via l'action de Neu-1. Ces résultats ont été confirmés par cytométrie de flux. Ces phénomènes sont bloqués par l'utilisation de lactose, antagoniste du récepteur. L'ajout exogène de lactosylcéramide permet de reproduire l'effet des peptides sur l'induction de la voie ERK1/2, confirmant son rôle de messager. En conclusion, nous montrons que le complexe récepteur de l'élastine transduit ses signaux via l'activité sialidase de sa sous-unité Neu-1, permettant

de convertir le ganglioside GM3 en lactosylcéramide. Ce mécanisme original pourrait permettre le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

T5.21

Impact du traitement par les thiazolidinédiones sur l'expression de protéines associées à l'adhérence et à la migration des cellules HT29.

RF

Auteur : C Fiatte, M Helle, V Rigot, M Dauça, N Kieffer, D Bagrel, F Plénat, H Schohn

Coordonnées : LIMBP, UPV-Metz, Institut Jean Barriol FR CNRS 2843, Metz

E-mail : cathy.fiatte@wanadoo.fr, schohn@univ-metz.fr

Résumé : Les récepteurs activables par les proliférateurs de peyoxysomes (PPAR) sont des membres de la famille des récepteurs nucléaires aux hormones. Ces récepteurs sont impliqués dans divers cancers, et en particulier, dans les cancers colorectaux.

L'objectif principal de ce travail est d'étudier l'impact de l'activation de l'isotype PPAR γ par deux TZD, la pioglitazone et la rosiglitazone, sur la survie cellulaire et sur les modifications d'expression de protéines associées aux processus d'adhérence et de migration cellulaire, in vitro et in vivo après greffes des cellules HT29 dans la paroi du cæcum de souris nude.

In vitro, nos résultats montrent que le traitement de 5 jours des cellules HT29 par chaque TZD diminue la croissance cellulaire. Lorsque les cellules sont traitées pendant 5 semaines, nous avons observé que l'impact des TZD sur la croissance cellulaire est conservé (40 à 50 % d'inhibition). Cet effet des TZD est cependant réversible. Le traitement prolongé par les TZD modifie l'expression de protéines associées au processus d'adhérence et de migration cellulaire telles que les sous-unités d'intégrine $\alpha 5$ ou αV , la sémaphorine-6B, la E-cadhérine ou la laminine- $\gamma 2$. De plus, nous avons constaté que les effets observés sur l'expression des protéines varient également en fonction de chaque TZD utilisée. In vivo, et selon le traitement appliqué, les TZD limite le développement des tumeurs. Les volumes des tumeurs chez les animaux traités diminuent de 30 à 85% selon le traitement appliqué. De plus, les TZD modifient également l'expression de protéines de surface in situ.

En conclusion, le traitement des cellules HT29 par les TZD conduit à une diminution de la croissance cellulaire. Il apparaît que ces traitements aboutissent à des modifications de l'expression de protéines de surface ou associées au processus d'adhérence et de migration. Enfin, ces variations d'expression seraient en partie le résultat de l'activation de PPAR γ .

Carcinogénèse

T5.22

Effects of 2,4-D and DEHP on Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation, c-Myc, DNA damage and apoptosis.

RF

Auteur : Maire Marie-Aline

Coordonnées : Laboratoire Interactions, Ecotoxicité, Biodiversité,

Ecosystèmes – CNRS UMR 7146 - Université Paul Verlaine – UFR SciFa – Campus Bridoux, Metz

E-mail : marie-aline.maire@univ-metz.fr

Résumé : The Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation is an established in vitro short-term assay for the evaluation of the carcinogenicity of chemicals. This assay is based on the conversion of normal to neoplastic-like cells having oncogenic properties. SHE cells, which are primary, normal and diploid cells, genetically stable cells and capable of metabolic activation. They provide a suitable model for the research of mechanisms of morphological cell transformation but also to study the mechanisms of in vitro carcinogenesis. The morphologically-transformed phenotype is characterised by the lost of contact inhibition and density-dependent inhibition of cells. The cells derived from morphologically transformed colonies produce tumors, when injected back into isolog animals, which demonstrated the relevance of the transformed phenotype of SHE cells as an indicator of neoplastic properties of chemicals.

The present research aimed at studying effects of low and non-cytotoxic concentrations of two rodent carcinogens, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (4.5-22 μ M) and di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) (10-50 μ M), on Syrian hamster embryo (SHE) cells in relation with carcinogenicity. Effects were studied on cell transformation, c-myc expression, apoptosis and DNA damage.

The results indicated that 2,4-D (11-22 μ M) and DEHP (25-50 μ M) induced morphological cell transformation in primary normal SHE cells at low concentrations.

DEHP (50 μ M) decreased c-myc expression and inhibited apoptosis triggered by growth factors deprivation via an increase of Bcl-2 expression. Mechanisms is different for 2,4-D which induce over-expression of c-Myc and DNA damage. Additional studies would be necessary to elucidate mechanisms of deregulation of both cell cycle control and differentiation.

Based on these results, 2,4-D and DEHP should be considered as potentially hazardous to humans.

T5.23

L'apoptose de cellules HaCaT irradiées par des UVB n'est pas affectée par les protéines E6 et E7 de différents bêta-HPV .

RF

Auteur : Guerrini Jean-Sébastien

Coordonnées : EA 3181 : carcinogénèse épithéliale, marqueurs prédictifs et pronostiques, Université de Franche-Comté, IFR133, Besançon

E-mail : jsguerrini@univ-fcomte.fr

Tél. : 03.63.08.22.15

Résumé : **Introduction :** Le rayonnement UV est le principal agent environnemental responsable de l'apparition de cancers cutanés épithéliaux et l'élimination par apoptose des cellules lésées par les UV prévient le développement carcinogène. Les papillomavirus humains (HPV) ont été décrits comme cofacteurs dans le développement des cancers cutanés mais leur action n'est pas clairement établie. Nous avons étudié le rôle des oncoprotéines virales E6 et E7 de différents β -HPV sur l'apoptose induite par les UVB dans le modèle cellulaire HaCaT.

Matériels et Méthodes : Les β -HPV étudiés ont été choisis en

raison de leur capacité à accroître la durée de vie de kératinocytes primaires. Après transduction rétrovirale à l'aide de vecteurs d'expression de E6 et E7, les cellules HaCaT ont été irradiées par des UVB et le pourcentage de cellules en apoptose a été mesuré par cytométrie de flux.

Résultats : Nous n'avons pas observé de différence entre les cellules exprimant E6 et E7 et les cellules témoins. La protéine p53 ayant été décrite comme nécessaire à l'action oncogène de l'HPV de type 38, nous avons restauré une activité p53 sauvage dans les cellules HaCaT présentant une p53 déficiente. L'utilisation de la molécule PRIMA-1 (p53 reactivation and induction of massive apoptosis) ou la transduction rétrovirale des cellules par un vecteur d'expression de p53 n'a pas modifié la réponse de ces cellules à l'irradiation par des UVB.

Discussion : Ces résultats suggèrent que les protéines E6 et E7 n'ont pas d'effet sur l'apoptose induite par les UVB dans le modèle cellulaire HaCaT.

Virus et Cancers

T5.24

Synergistic induction of apoptosis by a protein kinase inhibitor and histone deacetylase inhibitor combinative treatment in uterine cervix-derived cancer cell lines.

RF

Auteur : Decrion-Barthod Anne-Zélie

Coordonnées : EA 3181 - IFR133 - Université de Franche-Comté - CHU Jean Minjot, Besançon

E-mail : zelie@netcourrier.com

Résumé : Persistent infection with high risk human papillomaviruses (HR-HPV), especially HPV16 and 18, has been recognized as the major cause of cervical dysplasia and carcinoma. These cancers which represent a major health problem are often resistant to conventional therapies. Indeed, the continuous expression of E6 and E7 viral oncoproteins is associated with the inactivation of cellular death pathways. The development of innovative therapeutic approaches to specifically restore these pathways appears to be fundamental to improve the treatment of cervical cancer.

Staurosporine and its analog UCN-01 are potent inhibitors of multiple protein kinases in human cervical carcinoma-derived cells, exerting anti-proliferative effects and restoring p53-dependent apoptosis via intrinsic pathway. Histone Deacetylases Inhibitors (HDIs) that primarily target transcription by modifying the acetylation state of histones, induce growth arrest of cervical carcinoma cells as well as apoptosis through an E2F-mediated process with a strong induction of the pro-apoptotic isoform of p73.

Therefore the combined use of ST or UCN-01, and HDI was tested to highlight a synergistic apoptotic effect in HeLa (HPV18+) and CaSki (HPV16+) cells. Our in vitro results show that co-treatment of these cells by protein kinase inhibitors and HDIs (sodium butyrate or Trichostatine A) clearly blocks cell cycle progression in the G1 phase and increases in a synergistic manner the proportion of cells with depolarized outer mitochondria membrane and subsequently the number of apoptotic cells. The expression of p53 and p73 as well as PARP-1 cleavage are increased in presence of both molecules. Preliminary in vivo data on CaSki xenograft-

ted nude mice show that each compound, UCN-01 or sodium butyrate, intra-peritoneally administered, is able to inhibit tumor growth in comparison with untreated mice.

T5.25

A human kinome siRNA screen identifies a targetable signalling pathway controlling P53 transcription in human papilloma virus infected cervix carcinoma.

RF

Auteur : Benallaoua Mourad

Coordonnées : IGBMC, Illkirch

E-mail : mourad.benallaoua@titus.u-strasbg.fr

Tél. : 03 88 65 57 90

Résumé : Cervix cancer, a viral-induced disease, is the second mortality cause by cancer of women in the world. Although the recent campaign of vaccination novel therapeutic strategies still need to be developed for many safety reasons.

We used in this study a post-genomic approach based on RNA interference to discover genes of the kinome subset that act in pathways maintaining low P53 function in cervix carcinoma cell lines. Since the genome gatekeeper P53 transcription factor is native but inactivated by accelerated degradation mediated by HPV E6 viral protein, the inactivation of pathways controlling P53 gene transcription, translation and post-translational modifications may provide a reactivation of P53 sensor functions leading to cell cycle arrest, apoptosis and senescence of carcinoma cells.

Our RNAi screen show that P53 regulation in HR-HPV cells integrates a wide variety of regulators, including membrane receptors (LTK, NTRK1/TrkA), signalling downstream enzymes (PIPK1C, SLK, MAPK8, MAP2K5, RPS6KA6, PRKCH, TEC, ATM), metabolic key kinases (GCK, PFKM, ADK, PHKG2, PANK3) and adaptor proteins (NRBP1, ALS2CR2). Knock-down of these genes drive in each case the transcription of the cell-cycle regulators P21WAF1 and GADD45 leading to cell cycle arrest and apoptosis by induction of mitochondrial depolarization. NGF/TrkA-P75NTR signalling plays an important role in determining the fate of diverse cell types and deregulation has been implicated in several cancer types. We demonstrated the overexpression of NTRK1/TrkA in HeLa and Caski cervix carcinoma cell lines along with NGF ligand expression, leading to efficient NTRK1 receptor activation.

By using NFkB, AP1 promoter and CREB, Akt ELISA assays, we identified a negative regulation of the NFkB pathway by the TrkA survival pathway, controlling P53 transcriptional repression in HPV cervix carcinoma. Our results suggest that the TRKA pathway is a promising candidate for developing targeted therapies toward HPV cervix cancer.

Thème 6

Immunothérapie

T6.1

Déclinaison de la procédure « CliniMACS » (Miltenyi Biotec) pour le tri à grande échelle de cellules immunitaires humaines effectrices ou régulatrices. Déclinaison de la procédure « CliniMACS » (Miltenyi Biotec) pour le tri à grande échelle de cellules immunitaires humaines effectrices ou régulatrices.

RF

Auteur : Bellier Florence

Coordonnées : Institut Jean Godinot, Reims

E-mail : therapie.cellulaire@reims.fnclcc.fr

Résumé : La conception de nouvelles stratégies d'immunothérapie cellulaire peut être confortée par l'exploration ex vivo des réponses immunes anti-tumorales et des mécanismes de suppression impliqués dans l'échappement immunologique des tumeurs. De telles investigations nécessitent l'accès aux diverses populations cellulaires effectrices et régulatrices de l'immunité innée et adaptative. Nous avons étudié la faisabilité de la purification et de la cryoconservation de plusieurs de ces populations à partir de donneurs sains dans le cadre de l'étude clinique ALLOVACS.

Le travail est fondé sur l'utilisation de l'automate de tri cellulaire CliniMACS, (Miltenyi Biotec), normalement employé en clinique, qui sépare les cellules sur le principe de l'immuno-magnétisme. La gamme de billes immuno-magnétiques spécifiquement développée pour l'usage clinique a été systématiquement adoptée pour le ciblage des populations à trier. L'automate Cytomate, (Baxter) est utilisé pour le traitement des produits sanguins d'aphérèse.

La purification d'une population cible CD14+ a été développée par deux procédés déclinés à partir de la procédure standard utilisée pour la préparation de lots cliniques. Pour l'élimination des hématies et plaquettes, le premier procédé intègre un traitement par le Cytomate, le second une séparation des cellules mononuclées sur coussin de ficoll. Les deux procédés génèrent des résultats comparables en termes de rendement ($\geq 87\%$), de pureté ($\geq 96\%$), et de viabilité ($\geq 95\%$). Leur applicabilité a été démontrée pour le tri de deux populations lymphocytaires rares (NKT et Treg).

Les deux procédés de tri permettent d'accéder à des nombres élevés de cellules immunitaires humaines effectrices ou régulatrices. Ils présentent des avantages respectifs, l'un totalement automatisé et mené en circuit fermé, l'autre plus rapide et moins coûteux. Ces déclinaisons de la procédure CliniMACS permettent de préparer des lots de cellules immunitaires dédiées aux recherches ex vivo de nouveaux concepts d'immunothérapie anti-tumorale. La cryoconservation d'échantillons multiples permet de constituer des collections cellulaires dans le cadre de protocoles d'études avec consentement éclairé des donneurs.

T6.2

Efficiences des réponses immunes allo-induites générées ex vivo chez des patients atteints de cancer.

RC

Auteur : J-C Eymard, A Gervais, E Toulmonde, J Bernard

Coordonnées : Institut Jean-Godinot, Unité de Thérapie Cellulaire, Reims

E-mail : jc.eynard@reims.fnclcc.fr

Résumé : La réaction inflammatoire exerce un effet paradoxal sur le développement tumoral. Le plus souvent l'inflammation facilite la progression des tumeurs, mais occasionnellement a été décrite comme activatrice de la réponse immune de rejet. Ce paradoxe s'explique aujourd'hui par la nature du processus inflammatoire, soit dépourvu de signaux de danger comme dans le cas des désordres auto-immuns ou des infections chroniques, soit associé à de puissants signaux comme dans le cas des maladies infectieuses mais également celui de l'allogreffe. La réaction inflammatoire d'allogreffe réunit les deux facteurs qui conditionnent une vigoureuse réponse immune de rejet : l'activation des gènes stimulés par les interférons et l'activation des mécanismes effecteurs des réponses innée et adaptative. D'où l'idée d'activer les réponses immunes contre des antigènes de tumeur à l'aide de cellules présentatrices allogéniques. C'est dans cet esprit que nous poursuivons chez des femmes porteuses d'un cancer du sein ou des hommes présentant un cancer de la prostate l'analyse des réponses lymphocytaires induites par des cellules dendritiques allogéniques chargées avec des peptides tumoraux. Dans le cadre d'une étude clinique avec consentement éclairé, les lymphocytes de chaque patient sont cultivés avec des cellules dendritiques autologues ou allogéniques (provenant de donneurs sains) préalablement pulsées avec le peptide modèle Melan MART-1. Les résultats confirment que les cellules dendritiques allogéniques amplifient l'expansion clonale T spécifique, augmentent l'activité de cytolysse à médiation cellulaire T spécifique et activent les effecteurs de l'immunité non spécifique. Ces données montrent que les réponses allo-induites présentent des caractéristiques différentes des réponses autologues et incitent à explorer leur profil en élargissant l'analyse à d'autres paramètres d'évaluation. Cette stratégie ouvre de nouvelles perspectives d'immunothérapie anti-tumorale dans la mesure où elle pourrait contribuer à lever les mécanismes d'échappement de la tumeur.

T6.3

Ciblage d'oncoprotéines à l'aide de fragments d'anticorps recombinants intracellulaires.

RF

Auteur : A-S Rinaldi, A Stoessel, D Desplancq, A-P Sibling & E Weiss.

Coordonnées : UMR 7175 LC1 Equipe Immunobiotechnologie, Illkirch

E-mail : rinaldi@esbs.u-strasbg.fr

Résumé : Le maintien du caractère transformé des cellules cancéreuses est généralement lié à l'expression d'oncoprotéines qui, par le biais de nombreuses interactions protéine-protéine, perturbent le contrôle du cycle cellulaire en inhibant, entre autres, l'activité des protéines cellulaires suppresseurs de tumeur. Il a été montré dans quelques cas que la dérégulation de l'activité de telles oncoprotéines conduit à la sénescence et/ou à l'apoptose. Nous nous intéressons aux fonctions malignes de l'oncoprotéine E6 du papillomavirus humain de type 16 (HPV16) et de la gankyrin, toutes deux directement impliquées dans la dégradation de p53 et de Rb. Pour obtenir des inhibiteurs spécifiques de ces oncoprotéines, nous nous sommes inspirés de la méthodologie du ciblage d'oncoprotéines membranaires à l'aide d'anticorps thérapeutiques et avons construit une large banque de fragments d'anticorps recombinants humains simple-chaîne (scFv) qui sont tous solubles lorsqu'exprimés dans un contexte intracellulaire. Le criblage par phage display de cette banque avec des domaines structurés de E6 et de la gankyrin, obtenus après surexpression dans des cyanobactéries, a permis d'isoler plusieurs dizaines de fragments d'anticorps dont les boucles CDR3 sont toutes différentes. Divers tests de liaison in vitro montrent qu'ils se lient à des épitopes différents. Plusieurs de ces scFvs, dirigés précisément contre la région N-terminale de l'oncoprotéine virale, bloquent la dégradation de p53 médiée par E6 et une forte proportion des scFvs anti-gankyrin inhibe in vitro l'interaction gankyrin/ATPase S6. Notre approche d'immunociblage a donc permis de générer une collection unique de scFvs humains interférents qui sont utilisables dans un contexte intracellulaire. Nous sommes en train d'évaluer la capacité d'inhibition des fonctions malignes de E6 et de la gankyrin de ces fragments d'anticorps après transfection dans des lignées de cellules humaines, transformées par HPV16 ou issues d'hépatocarcinomes.

Les plateformes

PF1

Du gène au candidat médicament: les atouts de la Plate-forme de Chimie Biologique Intégrative de Strasbourg (PCBIS)

P. Villa¹; C. Valencia¹; B. Didier^{1,2}; J.-L. Galzi^{1,2}; M. Hibert^{1,2}; J. Haiech^{1,2}

¹ PCBIS, Illkirch;

² UMR7175 LC1, Illkirch

Contact : pascal.villa@pharma.u-strasbg.fr

La recherche de nouveaux médicaments est un défi constant pour les chercheurs d'aujourd'hui. Le criblage à haut débit est la technique de référence pour la recherche de nouvelles molécules susceptibles de devenir les médicaments de demain. Il consiste à tester un grand nombre de molécules chimiques (chimiothèques) sur un modèle biologique.

Pour réaliser une telle recherche il est nécessaire:

- 1) de mettre en place des chimiothèques dans des formats compatibles avec les robots,
- 2) de reproduire un modèle biologique simulant le mécanisme responsable d'une maladie puis de miniaturiser ce modèle,
- 3) de tester les molécules chimiques sur ce modèle biologique.

Cette miniaturisation et l'utilisation de robots permettent ainsi de tester jusqu'à 10 000 fois plus de molécules qu'un opérateur manuel. Après un premier test, les molécules montrant une activité significative (les « touches » ou « hits ») sont re-testées dans le cadre d'un criblage secondaire. Elles sont ensuite étudiées de façon plus approfondie afin de valider leur efficacité. La Plate-forme de Chimie Biologique Intégrative de Strasbourg (PCBIS) dispose des compétences et des équipements nécessaires à cette recherche de nouveaux médicaments et les met à la disposition des laboratoires désirant faire du criblage.

PF2

Plateforme des technologies du médicament – TechMed III

Patrick Gizzi

École Supérieure de Biotechnologie de Strasbourg, Illkirch

Contact : patrick.gizzi@pharma.u-strasbg.fr

La production et l'identification de molécules potentiellement thérapeutiques est aujourd'hui facilitée grâce aux nouvelles technologies comme la chimie combinatoire et le criblage à haut débit. Parmi le nombre important de « touches » obtenues, seule une petite proportion émergera pour atteindre le marché du médicament. Les autres seront rejetées au cours de leur développement principalement à cause de problèmes liés à leurs propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion (ADME) et de toxicité. De ce fait, il est nécessaire de déterminer ces propriétés le plus tôt possible dans le processus de développement afin de limiter les coûts en synthèse chimique, études in vivo, formulation, etc.. La plate-forme des Technologies du Médicament d'Illkirch (TechMedIII) possède l'expertise et l'équipement permettant l'évaluation rapide de ces propriétés d'ADME/Tox.

Les analyses que nous proposons sont regroupées en trois blocs de service : analyse et physicochimie, ADME préclinique et toxicité préclinique.

Nous offrons une prestation de services qui s'adresse aux laboratoires académiques mais également aux entreprises privées. Les analyses proposées sont réalisées selon des méthodes standardisées et fiables avec des délais courts.

Index

Analyse numérique

T3.1 - T3.10 - T3.11 - T4.1

Angiogenèse

T4.3 - T5.2 - T5.10 - T5.11 - T5.19

Apoptose

T5.1 - T5.23

Base de données

T3.11

Carcinogenèse

T5.22

CHC

T4.2 - T4.4

Chimie médicinale

T5.5 - T5.7 - T5.8 - T5.11 - T5.13
T5.14

Ciblage

T4.5 - T6.3

Classification tumorale

T3.7

Col de l'utérus

T5.1 - T5.2 - T5.24 - T5.25

Colon

T3.2 - T3.9 - T5.13 - T5.21

Colorectal

T1.3 - T3.7 - T5.4

Diagnostic

T1.4 - T2 - T3.12 - T3.13

Dosimétrie

T4.1

Elastines

T5.20

Epigénétique

T3.9 - T4.1

Etude multicentrique

T1.1 - T1.3 - T1.4

Etude pré-clinique

T5.1 - T5.2 - T5.3 - T5.4 - T5.5 - T5.6
T5.7 - T5.8 - T5.9 - T5.10 - T5.11
T5.14 - T5.15 - T5.16 - T5.17 - T5.18
T5.19 - T5.21 - T5.24 - T6.3

Evaluation des pratiques

T1.4 - T2

Génomique fonctionnelle

T5.25

Glioblastome

T3.5

Gliome

T4.3

Hématologie

T6.1

Histopathologie

T3.1 - T3.2

Imagerie

T3.1 - T3.2 - T3.13 - T4.5

Infidélité de la transcription

T3.10

Instabilité microsatellitaire

T3.9

Leucémie

T5.15

Maladie de Hodgkin

T3.4

Mélanome

T5.16 - T5.17 - T5.18 - T5.19

Métabolomique

T3.3 - T3.4 - T3.6 - T3.7 - T3.8

Métastases

T3.13 - 9 T4.4

Modèle animal

T3.8

Neuroblastome

T3.3

ORL

T4.1

Ovaire

T3.6

Peau

T3.1 - T5.23

Poumon

T1.4 - T2

Pronostic

T3.3 - T3.5 - T3.6 - T3.9 - T4.1

Prostate

T5.12 - T6.2

Qualité de vie

T1.1 - T1.2 - T1.3 - T1.4

Radiosensibilisation

T4.2 - T4.3

Radiothérapie

T3.5 - T4.1 - T4.2 - T4.3 - T4.4

Récepteurs nucléaires

T5.3 - T5.12 - T5.13

Réponse immunitaire

T6.2

Sein

T1.1 - T1.2 - T5.3 - T5.6 - T5.9 - T6.2

Spectroscopie

T3.5

Spectroscopie IR

T3.1 - T3.2

Stéréotaxie

T4.4

TEP

T1.4 - T2 - T3.4

Thérapie photodynamique

T4.5

Thyroïde

T3.12

Transcriptome

T3.10 - T3.11 - T5.12

Tumeur pédiatrique

T3.3

Xénogreffes

T3.2 - T4.3

Sponsors



CAISSE D'ÉPARGNE

*Alsace
Champagne-Ardenne - Lorraine
Bourgogne - Franche-Comté*

Le CGE vient de lancer un nouveau site web

www.cancerpole-ge.org

- L'Espace Grand Public sensibilise notamment aux enjeux de la recherche contre le cancer et aux dispositifs de lutte proposés en France, en particulier relatifs au Plan Cancer (Institut National du Cancer, cancérôpôles).
- L'Espace Acteurs offre d'une part une visibilité aux travaux et ressources des acteurs de la recherche contre le cancer du Grand-Est. D'autre part, il a été conçu en tant qu'outil de travail sous la forme d'une base de données interrogeable et relationnelle permettant d'accéder aux ressources suivantes :
 - Un annuaire des acteurs, équipes et unités de recherche / établissements hospitaliers / entreprises
 - Un répertoire des plateformes technologiques et hospitalières
 - Un répertoire des projets de recherche soutenus par l'Institut National du Cancer (INCa) ainsi que par d'autres institutions
 - Un accès en temps réel aux publications scientifiques des acteurs du Grand-Est

Vous souhaitez enrichir notre base, nous informer d'une avancée, d'un évènement : n'hésitez pas à nous le communiquer.

Le CGE | Bienvenue dans l'ESPACE Acteurs !

Le CGE | Les Axes | Les Plate-formes | La BDD du CGE | L'actualité

Espace acteurs - Le CGE

Alsace
Bourgogne
Champagne-Ardenne
Franche-Comté
Lorraine

- INCa & cancérôpôles
- Les Appels à Projets
- La Lettre du CGE
- La Plaquette du CGE
- Liens utiles
- La Parole est à Vous
- Accès Diabototec

NOUS TROUVER

Cancérôpôle du Grand-Est
Hôpital de Hautepierre
1, rue Mollat
67098 Strasbourg
Tél: +33 (0)3 88 12 25 35
Mét: info@cancerpole-ge.org

Plan d'accès

2è Forum du CGE à Vittef le 17 octobre 2008