

28 octobre

Session institutionnelle (10h00-10h30)

- ✿ L'Institut National du Cancer – **Jean-Baptiste HERBET**, Directeur du Département Recherche en Sciences Humaines et Sociales
- ✿ Le Cancéropôle du Grand-Est – **Pierre OUDET**, Directeur Scientifique

Epidémiologie et Santé Publique (10h30-12h30)

Chairman : **Mariette MERCIER, Besançon**
UFR SMP - CHU Besançon

- ✿ La plateforme inter-régionale « Qualité de Vie et Cancer » : bilan à 2 ans – **Franck BONNETAIN**, CLCC G.F. Leclerc

Exemples de projets adossés à la plateforme :

- ⇒ Déterminants de la fatigue au cours d'une chimiothérapie adjuvante du cancer du sein – **Christine ROTONDA**, EA4360 Apemac, Nancy-Université
- ⇒ Temps jusqu'à détérioration de la QdV comme modalité d'analyse longitudinale de la QdV chez des patientes atteintes d'un cancer du sein – **Zeinab HAMIDOU**, CLCC G.F. Leclerc, Dijon
- ✿ Etudes épidémiologiques du mélanome dans l'inter-région Nord-Est: une approche des inégalités face au cancer – **Florent GRANGE**, CHU Reims
- ✿ Déterminants géographiques et sociaux de la détection des adénomes et cancers colorectaux – **Claire BONITHON-KOPP**, Inserm U866, Dijon
- ✿ L'annonce du cancer : facteurs de personnalité et type de communication – **Livia EDERY**, EA 3071, Faculté de Psychologie et des Sciences de l'Education, Université de Strasbourg
- ✿ **Communications orales :**
 - ⇒ Mélanome cutané infiltrant en France en 2000 : incidence, estimation de la prévalence, circonstances de diagnostic et de prise en charge. Étude à partir des cas enregistrés dans 8 registres des cancers français – **Florence BINDER-FOUCARD**, Registre des cancers du Bas-Rhin, Faculté de Médecine, Service de santé publique, CHU Strasbourg
 - ⇒ Envahissement des ganglions non sentinelles en cas de ganglion sentinelle métastatique dans le cancer du sein : application et validation rétrospectives des modèles prédictifs sur une population régionale – **Olivier GRAESSLIN**, Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Reims
 - ⇒ Computerized Physician Order Entry (CPOE) of injectable antineoplastic drugs: epidemiologic study of prescribing medication errors (PME) and economic impact of

pharmaceutical management to prevent PME – **Virginie NERICH**, Pôle Pharmaceutique, CHU Besançon

Cocktail déjeunatoire et session de posters (n° 5 à 22) (12h30-14h00)

Infections et Cancer (14h00-14h50)

Chairman : **Jean-Luc PRETET**, Besançon

EA 3181, IFR 133, Université de Franche-Comté

- **Conférence plénière** - Virothérapie oncolytique des glioblastomes : étude clinique de phase I/IIa - **Jean ROMMELAERE**, Inserm U701 et DKFZ, Heidelberg
- Le programme conjoint CGE-DKFZ en Virologie Tumorale : le parcours d'un réseau de recherche appliquée bi-national - **Pierre OUDET**, Directeur scientifique du CGE

Génomique et Post-Génomique (14h50-16h20)

Chairman : **Olivier POURQUIE**, Strasbourg

Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC)

- **Conférence plénière** – Application of high throughput genomics for understanding transcription regulatory networks in tumorigenesis - **Irwin DAVIDSON**, IGBMC, Strasbourg
- Nuclear architecture and chromatin structure in genome integrity and DNA repair - **Evanthia SOUTOGLOU**, IGBMC, Strasbourg
- **Communications orales :**
 - ⇒ La poly(ADP-ribose) polymérase-3 : un nouvel acteur dans la maintenance de l'intégrité génomique – **Françoise DANTZER**, IREBS-FRE3211, ESBS, Strasbourg
 - ⇒ Contrôle de l'épissage des Cdc25 par des inhibiteurs de topoisomérases dans des lignées cellulaires de cancer du sein – **Hélène ALBERT**, Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Biochimie Pharmacologique, EA 3940, FR CNRS 2843, Université Paul Verlaine, Metz
 - ⇒ Clustering fonctionnel de gènes à partir d'une mesure de similarité sémantique innovante : de nouvelles pistes pour l'interprétation des profils d'expression relatifs aux tumeurs – **Sidahmed BENABDERRAHMANE**, LORIA UMR7503, CNRS-Nancy Université, Nancy
 - ⇒ Identification de marqueurs protéomiques dans le cancer de l'ovaire – **Caroline TRUNTZER**, Plateforme protéomique CLIPP, CHU Dijon

Pause café et session de posters (n° 1 à 4, 23 à 50) (16h20-16h50)

Relations Hôte-Tumeur (16h50-18h40)

Chairman : Sylvie FOURNEL, Strasbourg

CNRS et Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Strasbourg

- **Conférence plénière** - Rôle immunologique des HSPs extracellulaires lors de la transplantation des cellules souches hématopoïétiques - **Carmen GARRIDO**, Inserm U866, Dijon
- Rôle des polynucléaires neutrophiles dans l'activité anti-tumorale du lipide A - **Catherine PAUL**, Inserm U866 et Ecole Pratique des Hautes Etudes (EPHE), Dijon
- Biogenèse des exosomes et leur utilisation en immunothérapie contre les cancers - **Michel LABOUESSE**, IGBMC, Strasbourg
- Intérêt thérapeutique de l'inhibition du segment transmembranaire de la Neuropiline-1 - **Dominique BAGNARD**, Inserm U575, Strasbourg
- **Communications orales :**
 - ⇒ Tumor-selective apoptosis by TRAIL - **Valeria PAVET**, IGBMC, Strasbourg
 - ⇒ In vivo study of the tumor protective action of TRAIL transgenic mouse models - **Valérie KEDINGER**, IGBMC, Strasbourg

Les Partenaires du Forum ont la parole (18h40-19h20)

Session réservée aux biopharmas partenaires : présentation des orientations R&D en cancérologie et de la stratégie collaborative (académique et clinique)



Apéritif et dîner de gala au Château de l'Île (dès 20h)

29 octobre

Outils de Détection et de Prise en Charge (8h30-10h10)

Chairman : Pierre JEANNESSON, Reims

UMR CNRS 6237 – MEDyC, Université de Reims Champagne-Ardenne

- ☀ **Conférence plénière** - Imagerie et thérapie photodynamique appliquées aux tumeurs cérébrales - **Muriel BARBERI-HEYOB**, CRAN, UMR7039, Nancy
- ☀ Le projet CARMEN : recherche de marqueurs métaboliques de malignité et de pronostic – **Izzie NAMER**, CHU Strasbourg
- ☀ Cryoablation des tumeurs sous contrôle de l'imagerie scanner et IRM – **Afshin GANGI**, CHU et IRCAD, Strasbourg
- ☀ MIOThérIS : multi-thérapie ciblée de tumeurs et de métastases combinant une injection de vapeur d'eau en surpression et une administration locale de chimiothérapie - **Sophie HUMBERT**, CERMA, Archamps
- ☀ **Communication orale** :
 - ⇒ Apport de l'imagerie par fluorescence et bioluminescence en cancérologie – **Nadège BAUMLIN**, Inserm U682, Strasbourg

Pause café et session de posters (n° 1 à 4, 23 à 50) (10h10-10h40)

Recherche Translationnelle (10h40-12h50)

Chairman : Jean-François JEANNIN, Dijon

Inserm U866

- ☀ **Conférence plénière** – Prognostic and predictive values of high-resolution molecular DNA markers in non-small cell lung cancers (NSCLC) of **IFCT-00-02 trial** (Phase III study comparing a preoperative and a perioperative chemotherapy with two different chemotherapy regimens in resectable NSCLC) – **Michèle BEAU-FALLER**, CHU Strasbourg
- ☀ S-nitrosylation of the death receptor Fas amplifies Fas ligand-mediated cancer cell apoptosis – **Ali BETTAIEB**, Inserm U866 et EPHE, Dijon
- ☀ Mutation *KRAS* et fonctionnalité des voies de signalisation en aval de l'EGFR dans les cancers colorectaux métastatiques: approche intégrée vers une meilleure prédiction de réponse – **Anne-Sophie CHRETIEN**, EA SIGRETO et CLCC Alexis Vautrin, Nancy

- Projet de structuration de la recherche translationnelle dans le cadre du développement de l'Institut Régional du Cancer d'Alsace (IRECAL) – **Georges NOEL**, CLCC Paul Strauss, Strasbourg

- **Communications orales :**

- ⇒ Impact d'un inhibiteur de l'aminopeptidase N/CD13 sur la croissance de xénogreffes de tumeurs coliques humaines – **Manon VOEGELIN**, Inserm U682, Strasbourg
- ⇒ Neuropilin-2 expression promotes TGFβ1-mediated epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells – **Camille GRANDCLEMENT**, Inserm UMR 645, Université de Franche-Comté, EFS Bourgogne Franche-Comté, Besançon
- ⇒ Allogenic adoptive immunotherapy of the hepatocellular carcinoma by infusion of "ready-to-use" suicide gene-modified T lymphocytes – **Céline LEBOEUF**, Inserm U748, Strasbourg
- ⇒ Constitutively active androgen receptor in prostate cancer : molecular mechanisms of action and interconnection with tyrosine kinases pathways – **Irène ASMANE**, EA4438 Signalisation et Cancer de la Prostate, Université de Strasbourg

Cocktail déjeunatoire et session de posters (n° 5 à 22)
(12h50-14h20)

Recherche Clinique Interventionnelle au sein du CGE
(14h20-16h50)

Chairman : **Pierre FUMOLEAU**, Dijon

CLCC G.F. Leclerc

- Dynamisation de la recherche clinique : l'expérience de deux centres de Lutte contre le Cancer du Grand-Est
 - ⇒ Le Centre Georges-François Leclerc – **Pierre FUMOLEAU**
 - ⇒ L'Institut Jean Godinot à Reims – **Hervé CURE**
- Impact de la recherche clinique – **Xavier PIVOT**, CHU de Besançon
- La recherche clinique au CHU de Strasbourg dans le cadre de l'oncologie thoracique : les essais académiques et les essais sponsorisés par l'industrie pharmaceutique – **Elisabeth QUOIX**, CHU de Strasbourg
- CIC-C Nancy : exemple d'un continuum entre recherche de transfert et innovation diagnostique et thérapeutique – **Elisabeth LUPORSI**, CHU et CLCC Alexis Vautrin, Nancy
- Création de la filière de soins « GE-HOPE » (Grand Est - Hémato Oncologie Pédiatrique) – **Pascal CHASTAGNER**, Service d'Onco-hématologie pédiatrique, CHU Nancy
- **Communications orales :**
 - ⇒ Are the methylation of MGMT (O6-methylguanine-DNA methyltransferase) and the DNA mismatch repair (MMR) mechanism frequently involved in pediatric cancers ? – **Aurelia NGUYEN**, Unité d'Oncologie et Hématologie Pédiatrique du CHU de Strasbourg, EA 4438, Université de Strasbourg

⇒ A multiplex SNaPshot assay as a rapid method for simultaneous *K-ras* and *B-raf* mutations detection in advanced colorectal cancer – **Sandrine MAGNIN**, CHU, Plateforme de génétique moléculaire des cancers, Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Besançon

⇒ Chimiothérapie néo-adjuvante pour cancer du sein opérable (RH+ et TN-) : une étude randomisée comparant un bras standard à un bras adapté à la réponse tumorale – **Hervé CURE**, Institut Jean Godinot, Reims

Le Prix du Jeune Chercheur (16h50-17h00)



Clôture du Forum (à 17h00)



CANCÉROPÔLE DU GRAND-EST

4^{ème} forum

28-29 octobre 2010
au Château de l'Île à Strasbourg

www.canceropole-ge.org/forum

Infections
et
Cancers



Epidémiologie
Santé publique



Champagne-
Ardenne Lorraine
Alsace
Bourgogne Franche-
Comté

Génomique
Post-génomique
Relations hôte-tumeur



Recherche
translationnelle



Plan cancer 2009-2013

Nos partenaires



Comité Scientifique

Joseph ABECASSIS	Centre Paul Strauss, Strasbourg (référént régional)
Thomas BAUMERT	Faculté de Médecine, Inserm U748, Strasbourg
Philippe BECUWE	EA SIGRETO, Nancy
Laurent BEDENNE	Inserm EMI 0106, CHU Dijon, FFCD
Philippe BIREMBAUT	Inserm UMR S903, CHU Reims (référént régional)
Wilfrid BOIREAU	FEMTO-ST - CNRS UPR3203, Besançon
Christophe BORG	Service d'Oncologie Médicale du CHU de Besançon, EFS Bourgogne Franche-Comté (co-référént régional)
Olivier BOUCHE	Service d'Hépatogastroentérologie du CHU de Reims
Natacha ENTZ-WERLE	Service de Pédiatrie du CHU de Strasbourg
Jean-Christophe EYMARD	Dpt de Recherche Médicale, Institut Jean Godinot, Reims
Jean FAIVRE	Inserm U866, Registre Bourguignon des Cancers Digestifs, Dijon (référént régional)
Pierre FEUGIER	Service d'Hématologie Clinique du CHU de Nancy
Pierre FUMOLEAU	Service d'Oncologie, Centre Georges-François Leclerc, Dijon (animateur du Comité de Cliniciens)
Marc GUENNEUGUES	Chargé de mission scientifique, CGE
Francis GUILLEMIN	Ecole de Santé Publique, CIC-EC INSERM, CHU Nancy (référént régional)
Pierre JEANNESSON	MEDyC - UMR CNRS 6237, Reims
Jean-François JEANNIN	Inserm U866, EPHE, Dijon
Elisabeth LUPORSI	CIC-C, Centre Alexis Vautrin et CHU de Nancy
François-Xavier MAQUART	MEDyC - UMR CNRS 6237, Université Reims Champagne-Ardenne
Marc MAYNADIE	Service d'Hématologie Biologique, CHU Dijon
Jean-Louis MERLIN	EA SIGRETO, Unité de Biologie des Tumeurs, Centre Alexis Vautrin, Nancy
Christiane MOUGIN	EA3181, IFR133, Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, CHU de Besançon
Pierre OUDET	CGE et Laboratoire de Biochimie et Biologie Cellulaire du CHU de Strasbourg
Lionel PAZART	CIC-IT, CHU de Besançon
Thierry PETIT	Dpt de Médecine Oncologique, Centre Paul Strauss, Strasbourg
Xavier PIVOT	Service d'Oncologie Médicale du CHU de Besançon (co-référént régional)
Cécile ROCHETTE-EGLY	Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire (IGBMC), Strasbourg



Editorial

Pierre OUDET – Directeur Scientifique du CGE

Directeur Scientifique du Cancéropôle du Grand-Est

Soutenu par l'Institut National du Cancer (INCa), les collectivités territoriales et les associations caritatives, le Cancéropôle du Grand-Est (www.canceropole-ge.org) met en œuvre depuis 2004 une démarche inter-régionale de recherche intégrée contre le cancer couvrant l'Alsace, la Bourgogne, la Champagne-Ardenne, la Franche-Comté et la Lorraine. L'ambition est double :

● **MOBILISER** les expertises et ressources nécessaires afin de FACILITER la conduite de projets innovants et compétitifs

● **SENSIBILISER** les professionnels de santé et le grand public aux enjeux de cette recherche

Le **PLAN CANCER II** couvrant la période 2009-2013 a été lancé fin 2009. Il s'articule autour de trois objectifs majeurs : 1) construire dès aujourd'hui l'excellence des soins de demain, 2) réduire les inégalités territoriales et 3) comment vivre après le cancer ?

Les cancéropôles sont confortés dans leur rôle de coordinateur inter-régional de la recherche contre le cancer. Un nouveau programme de soutien aux cancéropôles, PROCAN II, est prévu par l'INCa avec une évaluation de leur action sur le triennal précédent qui sera réalisée à la fin de l'année par l'AERES (Agence d'Evaluation de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur). Les missions du CGE s'inscriront dans la continuité, avec une stratégie qui sera ajustée selon les orientations de l'INCa et les moyens qui seront alloués pour les mener à bien et en adéquation avec les politiques régionales dédiées de l'inter-région Grand-Est.

Les travaux réalisés visent à renforcer les **quatre thèmes fédérateurs priorités** depuis 2009 (trois axes thématiques et un transversal) :

- Epidémiologie et Santé Publique
- Infections et Cancers
- Génomique, Post-Génomique et Relations Hôte-Tumeur
- Recherche Translationnelle

La démarche accorde un rôle prépondérant aux activités du COCLIN (Comité des Cliniciens) pour inciter au montage et à la réalisation d'études cliniques précoces multicentriques s'appuyant sur les plateformes hospitalières et technologiques du Grand-Est.

Afin de conforter le dynamisme et la mobilisation des acteurs de la recherche contre le cancer du Grand-Est, **le CGE organise le 28-29 octobre à Strasbourg son 4^{ème} Forum**. Des biologistes, cliniciens, épidémiologistes, représentants des SHS et responsables de plateformes technologiques et hospitalières vous présenteront leurs dernières avancées, dont des innovations susceptibles de déboucher sur des applications cliniques. Des prix du Jeune Chercheur récompenseront les meilleurs posters et communications orales proposés par des doctorants. Notre ambition est que le 4^{ème} Forum du CGE devienne un lieu propice à la consolidation de synergies existantes et à la construction de nouvelles collaborations, en particulier entre chercheurs et cliniciens. L'émergence de projets pluridisciplinaires et l'encouragement d'équipes se mobilisant en faveur d'une recherche clinique et translationnelle de haut niveau sont une des priorités du CGE. L'équipe du CGE se joint à moi pour vous souhaiter un excellent Forum riche en contacts fructueux.

Sommaire



Programme du 4^{ème} Forum du CGE	6
Résumés des interventions	11
<i>28 octobre</i>	
Epidémiologie et Santé Publique	11
Infections et Cancer	15
Génomique et Post-Génomique	15
Relations Hôte-Tumeur	17
<i>29 octobre</i>	
Outils de Détection et de Prise en Charge	19
Recherche Translationnelle	21
Recherche Clinique Interventionnelle au sein du CGE	24
Résumés des posters et des communications non affichées	29
Epidémiologie et Santé Publique	29
Cibles Thérapeutiques et Nouvelles Molécules	31
Biomarqueurs et Imagerie	39
Relations Hôte-Tumeur	41
Radiothérapie et Radiobiologie	51
Index	52
Plan de la manifestation	53

28 octobre



Programme

Session institutionnelle

10h00-10h30

- L'Institut National du Cancer – *Jean-Baptiste HERBET*, Directeur du Dpt Recherche en Sciences Humaines et Sociales
- Le Cancéropôle du Grand-Est – *Pierre OUDET*, Directeur Scientifique

Epidémiologie et Santé Publique

10h30-12h30

Chairman: Mariette MERCIER, Besançon
UFR SMP – CHU Besançon

- La plateforme inter-régionale « Qualité de Vie et Cancer »: bilan à 2 ans - *Franck BONNETAIN*, CLCC Georges-François Leclerc, Dijon

Exemples de projets adossés à la plateforme :

- ⇒ Déterminants de la fatigue au cours d'une chimiothérapie adjuvante du cancer du sein – *Christine ROTONDA*, EA4360 Apemac, Nancy-Université
- ⇒ Temps jusqu'à détérioration de la QdV comme modalité d'analyse longitudinale de la QdV chez des patientes atteintes d'un cancer du sein – *Zeinab HAMIDOU*, CLCC Georges-François Leclerc, Dijon
- Etudes épidémiologiques du mélanome dans l'inter-région Nord-Est: une approche des inégalités face au cancer – *Florent GRANGE*, Service de Dermatologie, CHU Reims
- Déterminants géographiques et sociaux de la détection des adénomes et cancers colorectaux - *Claire BONITHON-KOPP*, Inserm U866, Dijon
- L'annonce du cancer: facteurs de personnalité et type de communication – *Livia EDERY*, EA 3071, Faculté de Psychologie et des Sciences de l'Education, Université de Strasbourg
- **Communications orales :**
 - ⇒ Mélanome cutané infiltrant en France en 2000 : incidence, estimation de la prévalence, circonstances de diagnostic et de prise en charge. Étude à partir des cas enregistrés dans 8 registres des cancers français – *Florence BINDER-FOUCARD*, Registre des cancers du Bas-Rhin, Faculté de Médecine, Service de santé publique, CHU Strasbourg
 - ⇒ Envahissement des ganglions non sentinelles en cas de ganglion sentinelle métastatique dans le cancer du sein : application et validation rétrospectives des modèles prédictifs sur une population régionale – *Olivier GRAESSLIN*, Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Reims
 - ⇒ Computerized Physician Order Entry (CPOE) of injectable antineoplastic drugs: epidemiologic study of prescribing medication errors (PME) and economic impact of pharmaceutical management to prevent PME - *Virginie NERICH*, Pôle Pharmaceutique, CHU Besançon

Cocktail déjeunatoire Session de posters (n° 5 à 22)

12h30-14h00

Infections et Cancer

14h00 - 14h50

Chairman: Jean-Luc PRETET, Besançon
EA 3181, IFR 133, Université de Franche-Comté

- **Conférence plénière** - Virothérapie oncolytique des glioblastomes : étude clinique de phase I/IIa - *Jean ROMMELAERE, Inserm U701 et DKFZ, Heidelberg*
- Le programme conjoint CGE-DKFZ en Virologie Tumorale : le parcours d'un réseau de recherche appliquée bi-national - *Pierre OUDET, CGE*

Génomique et Post-Génomique

14h50 - 16h20

Chairman: Olivier POURQUIE, Strasbourg
Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC)

- **Conférence plénière** - Application of highthroughput genomics for understanding transcription regulatory networks in tumorigenesis - *Irwin DAVIDSON, IGBMC, Strasbourg*
- Nuclear architecture and chromatin structure in genome integrity and DNA repair - *Evanthia SOUTOGLOU, IGBMC, Strasbourg*
- **Communications orales**
 - ⇒ La poly(ADP-ribose) polymérase-3 : un nouvel acteur dans la maintenance de l'intégrité génomique - *Françoise DANTZER, IREBS-FRE3211, ESBS, Strasbourg*
 - ⇒ Contrôle de l'épissage des Cdc25 par des inhibiteurs de topoisomérases dans des lignées cellulaires de cancer du sein - *Hélène ALBERT, Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Biochimie Pharmacologique, EA 3940, FR CNRS 2843, Université Paul Verlaine, Metz*
 - ⇒ Clustering fonctionnel de gènes à partir d'une mesure de similarité sémantique innovante : de nouvelles pistes pour l'interprétation des profils d'expression relatifs aux tumeurs - *Sidahmed BENABDERRAHMANE, LORIA UMR7503, CNRS-Nancy Université, Nancy*
 - ⇒ Identification de marqueurs protéomiques dans le cancer de l'ovaire - *Caroline TRUNTZER, Plateforme protéomique CLIPP, CHU Dijon*

Pause café

Session de posters (n° 1 à 4, 23 à 50)

16h20 - 16h50

Relations Hôte-Tumeur

16h50 - 18h40

Chairman: Sylvie FOURNEL, Strasbourg
CNRS et Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IBMC)

- **Conférence plénière** - Rôle immunologique des HSPs extracellulaires lors de la transplantation des cellules souches hématopoïétiques - *Carmen GARRIDO, Inserm U866, Dijon*

- Rôle des polynucléaires neutrophiles dans l'activité anti-tumorale du lipide A – *Catherine PAUL, Inserm U866 et Ecole Pratique des Hautes Etudes (EPHE)*
- Biogenèse des exosomes et leur utilisation en immunothérapie contre les cancers – *Michel LABOUESSE, IGBMC, Strasbourg*
- Intérêt thérapeutique de l'inhibition du segment transmembranaire de la Neuropiline-1 – *Dominique BAGNARD, Inserm U575, Strasbourg*
- **Communications orales :**
 - ⇒ Tumor-selective apoptosis by TRAIL – *Valeria PAVET, IGBMC, Strasbourg*
 - ⇒ In vivo study of the tumor protective action of TRAIL transgenic mouse models – *Valérie KEDINGER, IGBMC, Strasbourg*

Les Partenaires du Forum ont la parole 18h40 – 19h20

Chairman: Pierre OUDET, Strasbourg
CGE



Apéritif et dîner de gala au Château de l'Ile Dès 20h00

29 octobre



Programme

Outils de Détection et de Prise en Charge 8h30 – 10h10

Chairman: Pierre JEANNESSON, Reims
UMR CNRS 6237, MEDyC, Université de Reims Champagne-Ardenne

- **Conférence plénière** - Imagerie et thérapie photodynamique appliquées aux tumeurs cérébrales - *Muriel BARBERI-HEYOB, CRAN, UMR7039, Nancy*
- Le projet CARMEN : recherche de marqueurs métaboliques de malignité et de pronostic – *Izzie NAMER, CHU Strasbourg*
- Cryoablation des tumeurs sous contrôle de l'imagerie scanner et IRM – *Afshin GANGI, CHU et IRCAD, Strasbourg*
- MIOThérIS : multi-thérapie ciblée de tumeurs et de métastases combinant une injection de vapeur d'eau en surpression et une administration locale de chimiothérapie - *Sophie HUMBERT, CERMA, Archamps*

• **Communication orale :**

- ⇒ Apport de l'imagerie par fluorescence et bioluminescence en cancérologie – *Nadège BAUMLIN, Inserm U682, Strasbourg*

Pause café
Session de posters (n° 1 à 4, 23 à 50) **10h10 – 10h40**

Recherche Translationnelle **10h40 – 12h50**

Chairman: Jean-François JEANNIN, Dijon
Inserm U866

- **Conférence plénière** - Prognostic and predictive values of high-resolution molecular DNA markers in non-small cell lung cancers (NSCLC) of IFCT-00-02 trial (Phase III study comparing a preoperative and a perioperative chemotherapy with two different chemotherapy regimens in resectable NSCLC) – *Michèle BEAU-FALLER, CHU Strasbourg*
- S-nitrosylation of the death receptor Fas amplifies Fas ligand-mediated cancer cell apoptosis – *Ali BETTAIEB, Inserm U866 et EPHE, Dijon*
- Mutation *KRAS* et fonctionnalité des voies de signalisation en aval de l'EGFR dans les cancers colorectaux métastatiques: approche intégrée vers une meilleure prédiction de réponse – *Anne-Sophie CHRETIEN, EA SIGRETO et CLCC Alexis Vautrin, Nancy*
- Projet de structuration de la recherche translationnelle dans le cadre du développement de l'Institut Régional du Cancer d'Alsace (IRECAL) – *Georges NOEL, CLCC Paul Strauss, Strasbourg*

• **Communications orales :**

- ⇒ Impact d'un inhibiteur de l'aminopeptidase N/CD13 sur la croissance de xélogreffes de tumeurs coliques humaines – *Manon VOEGELIN, Inserm U682, Strasbourg*
- ⇒ Neuropilin-2 expression promotes TGFβ1-mediated epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells – *Camille GRANDCLEMENT, Inserm UMR 645, Université de Franche-Comté, EFS Bourgogne Franche-Comté, Besançon*
- ⇒ Allogenic adoptive immunotherapy of the hepatocellular carcinoma by infusion of "ready-to-use" suicide gene-modified T lymphocytes – *Céline LEBOEUF, Inserm U748, Strasbourg*
- ⇒ Constitutively active androgen receptor in prostate cancer : molecular mechanisms of action and interconnection with tyrosine kinases pathways – *Irène ASMANE, EA4438 Signalisation et Cancer de la Prostate, Université de Strasbourg*

Cocktail déjeunatoire
Session de posters (n° 5 à 22) **12h50 – 14h20**

Recherche Clinique Interventionnelle au sein du CGE

14h20 – 16h50

Chairman: Pierre FUMOLEAU, Dijon
CLCC Georges-François Leclerc

- Dynamisation de la recherche clinique, l'expérience de deux centres de Lutte contre le Cancer du Grand-Est :
 - ⇒ Le Centre Georges-François Leclerc à Dijon – *Pierre FUMOLEAU*
 - ⇒ L'Institut Jean Godinot à Reims – *Hervé CURE*
- Impact de la recherche clinique – *Xavier PIVOT, CHU de Besançon*
- La recherche clinique au CHU de Strasbourg dans le cadre de l'oncologie thoracique: les essais académiques et les essais sponsorisés par l'industrie pharmaceutique – *Elisabeth QUOIX, CHU de Strasbourg*
- CIC-C Nancy : exemple d'un continuum entre recherche de transfert et innovation diagnostique et thérapeutique – *Elisabeth LUPORSI, CHU et CLCC Alexis Vautrin, Nancy*
- Création de la filière de soins « GE-HOPE » (Grand-Est – Hémato-Oncologie Pédiatrique) – *Pascal CHASTAGNER, Service d'onco-hématologie pédiatrique, CHU Nancy*
- **Communications orales :**
 - ⇒ Are the methylation of MGMT (O6-methylguanine-DNA methyltransferase) and the DNA mismatch repair (MMR) mechanism frequently involved in pediatric cancers? – *Aurelia NGUYEN, Unité d'Oncologie et Hématologie Pédiatrique du CHU de Strasbourg, EA 4438, Université de Strasbourg*
 - ⇒ A multiplex SNaPshot assay as a rapid method for simultaneous K-ras and B-raf mutations detection in advanced colorectal cancer – *Sandrine MAGNIN, CHU, Plateforme de génétique moléculaire des cancers, Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Besançon*
 - ⇒ Chimiothérapie néo-adjuvante pour le cancer du sein opérable (RH+ et TN -) : une étude randomisée comparant un bras standard à un bras adapté à la réponse tumorale – *Hervé CURE, Institut Jean Godinot, Reims*

Les Prix du Jeune Chercheur 16h50 – 17h00



**Clôture du Forum
à 17h00**

Résumés des interventions

Session

Epidémiologie et Santé Publique



Plateforme de recherche clinique « Qualité de Vie et Cancer » du Cancéropôle du Grand-Est : bilan à 2 ans

Auteurs: Franck BONNETAIN¹, Mariette MERCIER², Damien JOLLY³, Christine BINQUET⁴, Michel VELTEN⁵, Sophie PARNALLAND⁶, Francis GUILLEMIN⁷

¹ Co-coordonateur de la plateforme, Unité de biostatistique et d'épidémiologie, EA 4184, Centre G.F. Leclerc, Dijon; ² Co-coordonateur de la plateforme, Laboratoire de biostatistique, EA 3181, Faculté de Médecine / Pharmacie, Unité de Recherche Clinique en Cancérologie, CHU Besançon; ³ Centre de Recherche, d'Investigation Clinique et d'Aide Méthodologique, CHU Reims; ⁴ Laboratoire de biostatistique, Inserm U-866, Faculté de Médecine et CIC-EC Inserm CIE-1, CHU Dijon; ⁵ Service d'épidémiologie et de biostatistique, EA 3430, Centre Paul Strauss, Strasbourg; ⁶ Chef de projet de la plateforme, Unité de biostatistique et d'épidémiologie, EA 4184, Centre G.F. Leclerc, Dijon; ⁷ Co-coordonateur de la plateforme : CIC-EC Inserm CIE-6, CHU, Nancy

E-mail: FBonnetain@dijon.fnclcc.fr

Résumé :

En octobre 2008, plusieurs chercheurs du Cancéropôle du Grand-Est spécialisés en QdV ont mutualisé leur expertise méthodologique et clinique en créant la 1ère plateforme française de recherche clinique « Qualité de Vie et Cancer » (labellisée par la Ligue Nationale Contre le Cancer et soutenue par l'INCa (www.canceropole-ge.org/cgweb/index.php?id=164)). Cette plateforme vise à favoriser l'utilisation de la QdV comme critère de jugement en cancérologie et à développer une recherche méthodologique de transfert. Elle offre une expertise méthodologique et clinique au niveau national pour la mesure et l'analyse de la QdV dans les essais cliniques et les études épidémiologiques.

Les recherches méthodologiques de « transfert » de la plateforme s'articulent autour de 3 axes :

- Axe 1 : Validation, sélection et utilisation de questionnaires de qualité de vie
- Axe 2 : Analyses longitudinales de la qualité de vie
- Axe 3 : Valeur pronostique de la qualité de vie et relation avec les critères cliniques

A titre d'exemple les projets suivants sont en cours :

- Evaluation et validation d'échelles de qualité de vie en fin de vie chez des patients atteints d'un cancer (CEOLE). Un comité de synthèse incluant des linguistes, des méthodologistes et un psychologue, a été constitué pour traduire et valider les 2 questionnaires de QdV en phase palliative. La traduction de ces questionnaires est terminée. Des pre-tests de compréhension doivent être effectués sur un petit groupe de patients. Une première publication est en cours d'écriture

- QALIPRO « Qualité de vie à long terme des patients traités pour cancer localisé de la prostate - Etude à partir de Registres de population ». Il s'agit d'une collaboration avec le CNO. La plateforme a été sollicitée pour réaliser l'adaptation en français du questionnaire EPIC et tester ses propriétés psychométriques dans la version française en termes

de validité de structure, de reproductibilité, de fiabilité, de sensibilité au changement et d'applicabilité (Financement INCa PAIR prostate 2010)

- « Apport de l'évaluation en routine de la QdV pour les patients ayant un cancer de la tête et du cou traité par radiothérapie : impact sur la satisfaction des soins, la qualité de vie et sur les toxicités ». A ce jour 45 patients ont été randomisés, cette essai d'intervention vise à évaluer l'intérêt d'utiliser la QdV (en terme de satisfaction, QdV et de tolérance). Une étude analogue dans les cancers du sein va être initiée (financement INSERM 2010 et Prix Ruban Rose 2009)

- « Evaluation des modalités d'analyse longitudinale de la qualité de vie : temps jusqu'à détérioration définitive de la QdV ». Un premier article sur cette thématique a été accepté (Bonnetain F, et al. Time to definitive quality of life score deterioration as a means of longitudinal analysis for treatment trials in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma. Eur J Cancer 2010. In Press), d'autres travaux et articles sont en cours.

La plateforme comprend un bureau représentatif des 5 régions du Grand Est. Depuis sa création, la plateforme s'est structurée en créant un comité technique national (méthodologistes et cliniciens spécialistes de la QdV au niveau national) permettant de veiller à la qualité des projets de la plateforme, un Comité d'Experts dans différents domaines en particulier en Sciences Humaines et Sociales et un Conseil Scientifique se réunissant une fois par an. Elle bénéficie de ses propres ressources humaines (un chef de projet et un statisticien). Des doctorants participent également aux projets de recherche.

Nous avons également, en collaboration avec l'INCa, organisé une journée sur « L'évaluation de la qualité de vie des personnes atteintes de cancer » (1er juin 2010). En octobre 2010 en partenariat avec la SFRO, une session qualité de vie après radiothérapie sera proposée. Ces communications ont pour objectif de promouvoir la QdV comme critère de jugement en cancérologie sans éluder les questionnements méthodologiques que nous investiguons au travers nos axes de recherches méthodologiques.



Determinants of fatigue after surgery in women with early-stage invasive breast cancer

Auteurs: Christine ROTONDA^{1,2,3,4}, Francis GUILLEMIN^{1,2,3}, Franck BONNETAIN⁵, Michel VELTEN⁶, Thierry CONROY^{3,4}

¹ INSERM, CIC-EC CIE-6, Nancy; ² CHU Nancy, Epidémiologie et Evaluation Cliniques, Nancy; ³ Nancy-University, Paul Verlaine Metz University, Paris Descartes University, EA 4360 Apemac, Nancy; ⁴ Department of Medical Oncology, Centre A. Vautrin, Nancy; ⁵ Centre G.F. Leclerc, Biostatistic and Epidemiological Unit, Dijon; ⁶ Centre Paul Strauss, Strasbourg

E-mail: christine.rotonda@hotmail.fr

Purpose: Fatigue is one of the most frequent symptoms in cancer patients. However the precise determinants of fatigue are still unknown.

The present study is part of a longitudinal fatigue project in breast cancer patients receiving adjuvant

chemotherapy. It was conducted to investigate, before surgery and just before subsequent adjuvant therapy, factors correlated with cancer-related fatigue in breast cancer patients who underwent surgery.

Patients and Methods: This study was conducted in three French cancer care centers. Patients completed the Multidimensional Fatigue Inventory (MFI), the EORTC QLQ-C30 before and after surgery, the Trait Anxiety Inventory and the Life Orientation Test before surgery and the State Anxiety Inventory before the start of adjuvant therapy. Multiple regression analyses of determinants of MFI total score were conducted.

Results: A group of 304 patients with stage I-III breast cancer with planned surgery were eligible. Postsurgery fatigue was significantly correlated with optimism, global Health Status/Quality of Life, physical and cognitive functioning, and these four factors accounted for a total of 55% of variance in fatigue. Change in MFI total score after surgery was significantly correlated with fatigue, optimism's level, global Health Status/Quality of Life and role functioning before surgery, and with change in global Health Status/Quality of Life, physical functioning, emotional functioning and role functioning after surgery. Marital status was also found to influence change in MFI total score. These 9 factors accounted for a total of 54% of variance in fatigue change. Disease stage, lymph node metastases, surgical procedure and demographic characteristics (such as age, having children, educational level) were not correlated with fatigue.

Conclusion: These results suggest that worsening in fatigue after surgery, in this population, is determined by physical functioning and psychological distress rather than the cancer itself.



Temps jusqu'à détérioration de la qualité de vie comme modalité d'analyse longitudinale de la qualité de vie chez des patientes atteintes d'un cancer du sein

Auteurs: Z. HAMIDOU^{1,4}, T. DABAKUYO^{1,2,4}, M. MERCIER², J. FRAISSE³, S. CAUSERET³, H. TIXIER³, M.-M. PADEANO^{3,8}, C. LOUSTALOT³, J. CUISENIER³, J.-M. SAUZEDDE⁵, M. SMAIL⁶, J.-P. COMBIER⁷, P. CHEVILLOTTE⁷, C. ROSBURGER⁷, P. ARVEUX^{1,4}, F. BONNETAIN^{1,2,4}

¹ Unité de biostatistiques et d'épidémiologie, Centre G.F. Leclerc, Dijon; ² Plateforme « Qualité de Vie et Cancer »; ³ Département de chirurgie, Centre G.F. Leclerc, Dijon; ⁴ EA 4184, Faculté de Médecine, Université de Bourgogne, Dijon; ⁵ Hôpital privé de Val de Saône, Mâcon; ⁶ Hôpital privé de Sainte Marie, Chalon Sur Saône; ⁷ Hôpital Hôtel-Dieu, Le Creusot; ⁸ Hôpital privé Chenôve, Chenôve

E-mail: ZHamidou@cgfl.fr

Objectif : Evaluer différentes définitions du temps jusqu'à détérioration (TD) d'un score de QdV selon la plus petite différence ayant un sens clinique (PDSC) et la référence pour identifier la PDSC.

Méthodes : La QdV a été évaluée à l'aide des questionnaires QLQ-C30 et QLQ-BR-23 de l'EORTC, avant la chirurgie, juste après, six et 12 mois après, dans une étude prospective et multicentrique de femmes atteintes d'un cancer du sein. La santé globale (GHS), les symptômes du bras et du sein ont été spécifiquement étudiés. Les analyses ont été effectuées en considérant une PDSC de cinq points comme détérioration, puis répétées en utilisant une PDSC de dix points, en considérant la détérioration d'au moins un des trois scores et en prenant le score post-opératoire comme référence. Les TD de la QdV ont été estimés par la méthode de Kaplan-Meier et comparés

par des tests de Log-Rank. Des modèles de Cox ont été effectués pour étudier les facteurs pronostiques des TD. Les résultats seront comparés avec ceux obtenus avec le modèle mixte d'ANOVA.

Résultats : 518 patientes ont été incluses dans l'étude. 235 ont subi un curage axillaire classique (ALND), 222 la technique du ganglion sentinelle (SLNB) et 61 SLND+ALND. En fixant la PDSC à cinq ou dix points, on observe le même nombre d'événements (n=199) pour le score des symptômes du bras. Le TD est significativement plus long pour les patientes traitées par SLNB, HR=0.64 (IC à 95% : 0.48-0.86) que pour celles traitées par ALND. La médiane est 7.2(3.76-12.96) vs 2.4mois(2.0-6.1). Cependant, aucune différence significative n'est observée pour les scores GHS et sein, quelque soit le type de curage.

Conclusion : L'exploration de différentes définitions du TD de la QdV permettra de mettre au point une définition optimale qui rendra l'interprétation des données de QdV plus accessible aux cliniciens.



Etudes épidémiologiques du mélanome dans l'inter-région Nord-Est : une approche des inégalités face au cancer

Auteurs: F. GRANGE¹, C. BARBE², F. VITRY², D. LIPSKER³, F. AUBIN⁴, G. HEDELIN⁵, S. DALAC⁶, F. TRUCHETET⁷, C. MICHEL⁸, M.L. BATARD⁹, F. GRANEL-BROCARD¹⁰, A. Le CLAINCHE², J.M. HALNA⁵, S. DALLE¹¹, E. HIBON¹², P. BERNARD¹, B. LAVOLE¹³, M. COLOMB¹³, A. DANZON⁵

Services de Dermatologie des CH(U) de ¹ Reims, ³ Strasbourg, ⁴ Besançon, ⁶ Dijon, ⁷ Thionville, ⁸ Mulhouse, ⁹ Colmar, ¹⁰ Nancy et ¹¹ Lyon; ² CRICAM, Reims; ⁵ registres des cancers - FRANCIM; ¹² CRISAP Champagne-Ardenne; ¹³ Réseau ONCOCHA

E-mail: fgrange@chu-reims.fr

Introduction: Les inégalités face au cancer sont un axe prioritaire du Plan Cancer 2. Une série d'études épidémiologiques approchant cette question a été déployée dans l'inter-région NE pour le mélanome (M).

Patients et méthodes: Une enquête auprès des dermatologues (D), des registres des cancers et des laboratoires de pathologie, a permis de recueillir avec une exhaustivité de 83% des informations détaillées sur les M survenus dans l'inter-région en 2004, incluant leurs circonstances de diagnostic (CD) et leur prise en charge. Les facteurs associés aux variations de prise en charge ont été étudiés par des modèles multivariés. Dans la région Champagne-Ardenne (CH-A) dépourvue de registre des cancers, un Observatoire du M (OMECHA) a été créé afin de préciser les inégalités inter et intra-régionales

Résultats: Des données détaillées ont été obtenues pour 710 M, survenus en 2004 chez 373 F et 332 H. L'analyse des pratiques a montré d'importantes disparités dépendant plus largement de l'environnement géographique et médical que des caractéristiques des malades et de leurs tumeurs (1). Il n'y avait pas de différence significative de prise en charge entre H et F mais les M étaient diagnostiqués plus tardivement chez les H (Breslow moyen: 1,9 vs 1,35 mm, p=0,03). Des différences significatives étaient par contre observées chez les plus de 70 ans à tous les stades de la prise en charge: délais plus longs, marges plus faibles, moins de recours à l'hôpital, de RCP, de traitements adjuvants, de ganglions sentinelles, d'imagerie.

L'étude des CD montrait d'importantes différences entre les M diagnostiqués directement par les D et adressés par les généralistes (2). En analyse multivariée, l'âge jeune, le dépistage par un D, la

densité géographique de D et les types histologiques SSM/Dubreuilh étaient associés à un Breslow fin.

L'Observatoire OMECHA a montré des M nettement plus épais chez les sujets âgés, et d'importantes inégalités intra et interrégionales, avec des M plus graves en CH-A que dans les autres régions du NE.

Discussion: L'étude des pratiques et des CD a été répétée pour 2008 et une comparaison avec 2004 est en cours d'analyse. Trois études complémentaires visent respectivement à identifier les facteurs socio-environnementaux associés aux M épais et à préciser les caractéristiques de 2 types souvent graves de M: ceux des extrémités et de la tête et du cou. Des études interventionnelles ont été mises en place pour corriger les inégalités.

Références

1. F Grange et al. Arch Dermatol 2008; 144: 629-36
2. F Durbec et al. Arch Dermatol 2010, 146:1-7
3. C Barbe et al. Epidemiology of melanoma in the Champagne-Ardenne region, France : an approach of inequalities facing cancer (in preparation)



Déterminants géographiques et sociaux de la détection des adénomes et cancers colorectaux

Auteur: Claire BONITHON-KOPP

Inserm U866, Dijon

E-mail: bonithon@u-bourgogne.fr

La France est l'un des pays européens où les inégalités de santé sont les plus prononcées, sans réduction notable dans les 2 dernières décennies. Ces inégalités sociales sont bien documentées en France pour la mortalité par cancer colorectal mais peu de données sont disponibles sur l'incidence des cancers, leur survie, leur prise en charge ou l'accès aux soins. La plupart des cancers colorectaux naissent d'un adénome, lésion bénigne fréquente dans la population, mais rarement détectée en l'absence d'un dépistage organisé. L'amélioration de la détection précoce et de la résection des adénomes est un objectif majeur de santé publique. Mieux connaître les facteurs sociogéographiques associés avec le processus de détection des adénomes dans la population est un préalable indispensable à l'amélioration de la prévention du cancer colorectal. Notre hypothèse principale est que le gradient social devrait être plus prononcé sur le processus de détection des adénomes que sur le diagnostic de cancer colorectal.

Avec le support de l'INCa, une étude de registre a donc été mise en place en Côte d'Or afin d'évaluer l'impact de disparités sociogéographiques sur le taux de détection des adénomes et le taux d'incidence du cancer colorectal avant la mise en place du dépistage organisé par test Hemocult®. La population inclut tous les patients ayant eu un premier diagnostic d'adénomes (environ 5000) ou un premier diagnostic de cancer colorectal (environ 1800) entre janvier 1995 et décembre 2002. Des indicateurs socioéconomiques issus du recensement de 1999 de l'INSEE seront obtenus au niveau de petites zones géographiques (IRIS) afin de calculer divers scores de « déprivation ».

Ce travail en cours fournira des données originales permettant de mieux comprendre le rôle des facteurs sociogéographiques dans le processus de détection des néoplasies colorectales. Il constituera une première étape pour une analyse ultérieure des inégalités de santé après mise en place du dépistage organisé.



Adjuvant chemotherapy in breast cancer, do you agree or not? Decision making factors of patients

Auteurs: Livia EDERY, Marie-Frédérique BACQUE

EA 3071, Faculté de Psychologie et des Sciences de l'Education, Université de Strasbourg

E-mail: livia.edery@hotmail.fr

Background: To define the psychological factors involved in the active participation of the patient to its therapeutic protocol. To bring to light the variables allowing to know the level of patients participation about their therapeutic protocol. To adjust the patient medical information.

Method: A descriptive, longitudinal study. 50 breast cancer patients. After a curative surgical intervention adjuvant chemotherapy has been proposed to all patients. Two research times defined by stages of therapeutic protocol: the therapeutic protocol's announcement by oncologist and before the 1st cure of chemotherapy.

Each of both groups is assessed in co-factors of decision-making: Patient's psychopathology and physician's strategies adopted by patients. Non-verbal modalities of communication are studied in three physicians.

Results: 82% patients accepted the adjuvant chemotherapy and 18% refused it. Assent to therapeutic protocol is determined by hostility, sensitivity, anxiety and depressive psychological levels. More the anxiety level of announcement is high, more patients have accepted treatment. Physician's confidence and the treatment's obligation feeling carried weight on the patient agreement. Non-directive physician and chemotherapy's bad effects influenced on patient's refusal. No influence of non-verbal communication adopted by physician on patients decision-making.

Conclusion: About 1/5 patients have refused adjuvant chemotherapy. Personality, expectations and psychological strategies of the patient take part in the progress of the consultation and even her decision-making. Oncologist's communication is necessary to explain purpose of adjuvant treatment. Stressful aspect of consultation has an impact on the physician-patient relationship and not the opposite. This may strengthen or inhibit the implication of patient in her decision-making.



Mélanome cutané infiltrant en France en 2000 : incidence, estimation de la prévalence, circonstances de diagnostic et de prise en charge. Étude à partir des cas enregistrés dans 8 registres des cancers français

Auteurs: Florence BINDER-FOUCARD^{1,2,12}, Sebastian OLTEANU^{1,2,12}, Evelyne FOURNIER^{3,12}, Jérémie JEGU^{1,2}, Anne-Valérie GUIZARD^{4,12}, Simona BARA^{5,12}, Marc COLONNA^{6,12}, Pascale GROSCLAUDE^{7,12}, Bénédicte LAPOTRE-LEDOUX^{8,12}, Florence MOLINIE^{9,12}, Brigitte TRETARRE^{10,12}, Michel VELTEN^{1,11,12}

¹ Registre des cancers du Bas-Rhin, Faculté de médecine, Université de Strasbourg; ² Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg; ³ Registre des tumeurs du Doubs; ⁴ Registre général des tumeurs du Calvados; ⁵ Registre des cancers de la Manche; ⁶ Registre des cancers de l'Isère; ⁷ Registre des cancers du Tarn; ⁸ Registre des cancers de la Somme; ⁹ Registre des cancers de la Vendée; ¹⁰ Registre des cancers de l'Hérault; ¹¹ Centre régional de lutte contre le cancer Paul Strauss, Strasbourg;

¹² Réseau français des registres des cancers, FRANCIM
Avec le soutien de Pfizer

E-mail: florence.binder@medecine.u-strasbg.fr

Contexte: En France le mélanome cutané se situe au 9^e rang des cancers. Il n'existe pas de données d'incidence en fonction du stade et de la prévalence.

L'objectif principal est de mesurer son incidence en fonction du stade et de la fréquence des métastases afin d'estimer la prévalence partielle à 5 ans du mélanome avec métastases. Les objectifs secondaires sont de réaliser un état de lieu des circonstances de diagnostic et de prise en charge de ces cancers.

Méthode: 840 cas de mélanome cutané infiltrant ont été tirés au sort parmi les cas enregistrés dans les registres des cancers de 8 départements français entre 1999 et 2002. Seul le 1^{er} mélanome cutané infiltrant a été pris en compte. Les données ont été recueillies à partir des dossiers médicaux. Le suivi de l'évolution de ces cas pendant 5 ans a permis de déterminer le pourcentage de patients avec métastases ainsi que leur survie. Ces données ont permis d'estimer la prévalence du mélanome cutané métastatique. Afin de mettre en évidence les facteurs indépendants associés aux circonstances de diagnostic, une analyse univariée puis multivariée ont été réalisées.

Résultats: La répartition en fonction du stade était : I : 56,5%, II : 21,1%, III : 4,3%, IV : 1,5%. L'estimation nationale du nombre de cas incidents en 2000 avec métastases initiales est de 102 cas. La survie globale brute à 5 ans a été estimée à 79,9% [76,9% ; 82,5%]. La prévalence partielle fin 2004 des mélanomes cutanés infiltrants diagnostiqués de 2000 à 2004, a été estimée en France à 31278 cas. La prévalence partielle des mélanomes cutanés infiltrants sans métastase a été estimée à 28968 cas. La prévalence partielle des mélanomes cutanés métastatiques est estimée à 2310 cas.

Le diagnostic était fait par un dermatologue dans 67 % des cas, un médecin généraliste dans 18% des cas et par un autre spécialiste dans 15 % des cas.

Conclusion: Ces résultats sont essentiels à la surveillance épidémiologique et à l'évaluation des besoins en matière de soins du mélanome.



Envahissement des ganglions non sentinelles en cas de ganglion sentinelle métastatique dans le cancer du sein: application et validation rétrospectives des modèles prédictifs sur une population régionale

Auteurs: M. DURIER^{1*}, E. FONDRINIER², P.H. DORANGEON³, R. FAUVET⁴, K. BASSOT¹, N. GAVILLON¹, C. COUTANT⁵, O. GRAESSLIN¹

¹ Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Reims; ² Institut Jean Godinot (IJG), Reims; ³ Clinique Courlancy, Reims; ⁴ Maternité Camille Desmoulins, CHU Amiens; ⁵ Hôpital Tenon (AP-HP), Paris

E-mail: ograesslin@chu-reims.fr

Du fait d'une politique de dépistage de plus en plus performante, une grande partie des cancers du sein diagnostiqués sont de petite taille et, dans ce cas, les ganglions axillaires sont le plus souvent indemnes d'envahissement métastatique (70% des patientes ayant un cancer du sein de moins de 20 mm (T1) n'ont pas d'envahissement métastatique axillaire). En cas de tumeur de petite taille, l'évaluation ganglionnaire axillaire est faite par la technique du ganglion sentinelle (GS), conduisant à la réalisation d'un curage axillaire (CA) uniquement en cas de positivité du GS. Cependant, le CA ne retrouve une atteinte des ganglions non sentinelles (GNS) que dans 40 à 70%

des cas de GS positifs. Depuis plusieurs années, des modèles prédictifs (nomogrammes et scores) d'atteinte des GNS en cas de GS positifs ont été développés, validés et publiés dans la littérature mais semblent peu utilisés par les cliniciens.

Objectifs : évaluer la performance des modèles prédictifs d'envahissement des ganglions non sentinelles (GNS) en cas de ganglion sentinelle (GS) positif chez des patientes présentant un cancer du sein en les appliquant à une population régionale et définir le modèle le plus pertinent pour une utilisation en pratique clinique.

Matériel et méthodes : étude rétrospective multicentrique (CHU de Reims et d'Amiens, IJG de Reims (CRLCC), Clinique Courlancy de Reims) incluant 150 patientes présentant un cancer du sein T0 ou T1 avec GS positif et ayant subi un curage axillaire avec analyse histologique de tous les GNS, sur une période continue de janvier 2006 à août 2009. Application des modèles de prédiction (nomogrammes du MSKCC, de Stanford et scores de Tenon et de Saidi) publiés dans la littérature.

Résultats : l'analyse statistique des données a permis d'établir les performances des différents modèles avec une AUC de 0.79 pour les nomogrammes du MSKCC et de Stanford et le score de Tenon, associés à un taux de faux négatifs (FN) respectivement de 6.6%, 3.8%, et 5.5%. Le score de Saidi présente des performances moindres (AUC à 0.68 et taux de FN de 18.4%).

Conclusion : trois modèles pourraient donc être applicables en pratique clinique après validation prospective (MSKCC, Stanford et Tenon). Ce sont des outils intéressants pour prédire la probabilité de métastases ganglionnaires axillaires résiduelles en cas d'atteinte du GS mais qui doivent encore être affinés notamment en cas de micro- ou nano-métastase décelées sur le GS.



Computerized Physician Order Entry (CPOE) of injectable antineoplastic drugs: epidemiologic study of prescribing medication errors (PME) and economic impact of pharmaceutical management to prevent PME

Auteurs : Virginie NERICH, Martin DEMARCHI, Christophe BORG, Cristian VILLANUEVA, Pierre-Simon ROHRLICH, Virginie WESTEEL, Antoine THIERY-VUILLEMIN, Philippe HELIAS, Xavier PIVOT, Marie-Christine WORONOFF-LEMSI, Samuel LIMAT

Pôle Pharmaceutique, CHU Besançon

E-mail : v1nerich@hu-besancon.fr

Purpose: In the context of CPOE of standardized injectable antineoplastic drugs, objectives of the present study were to determine the incidence of PME and to analyse PME related to antineoplastic treatment in university teaching hospital. A cost-benefit analysis was carried out to determine the potential economic profile of clinical pharmacy validation and intervention in the prevention of PME.

Methods: All consecutive prescribing medication orders over one year were analysed prospectively. Risk factors were identified with a logistic-regression model. An economic decision analysis model was performed to compare two strategies: with versus without clinical pharmacy validation (\pm pharmacy intervention). The model is based on only direct medical costs (€) related to net cost and net benefit.

Results: A total of 14,854 prescriptions were analysed. The PME incidence was estimated at 1.5% [1.3 – 1.7], with a significant or very significant clinical impact in 62.9% of cases. Potentially death-

threatening events were avoided in 3.7% of cases. Overall, PME incidence related to significant, very significant or vital clinical impact was estimated to be 1.0% [0.8 – 1.2]. The most common type of error was related to the dose of antineoplastic drug (61.0%). Occasional users and residents were identified as main risk factors of PME. Cost-benefit analysis could estimate a net benefit-to-cost ratio of 33.3 (€17.34/€0.52) and a total benefit at €16.82 per clinical pharmacy validation or €249,844 per year.

Discussion-Conclusion: Despite optimal and efficient organisation, a risk of PME was identified and explained, in part, by risk factors. A clinical pharmacy validation of prescribing medication orders is clearly required, with a substantial economic benefit. Software improvement and efforts to raise prescribing physicians' awareness could improve the quality and security of the CPOE.

Session Infections et Cancer



Virothérapie oncolytique des glioblastomes: étude clinique de phase I/IIa

Auteur: Jean ROMMELAERE

Inserm U701, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg (DKFZ), Allemagne

E-mail: j.rommelaere@dkfz.de

Résumé:

Viruses belonging to the genus Parvovirus, within the Parvoviridae family, are able to replicate autonomously in the absence of helper viruses, in contrast to the adeno-associated virus members. The experimental infectivity and excellent tolerance of some rodent autonomous parvoviruses in humans, together with their oncosuppressive effects in preclinical models, speak for the inclusion of these agents in the arsenal of oncolytic viruses under consideration for cancer therapy. In particular, wild-type parvovirus H-1PV can achieve a complete cure of various tumors in animal models and kill tumor cells that resist conventional anticancer treatments. There is growing evidence that parvoviral oncosuppression involves an immune component in addition to the direct viral oncolytic effect. This talk will summarize the recent assessment of H-1PV antineoplastic activity in preclinical models, laying the foundation for the present launch of a first phase I/IIa clinical trial on glioma patients.



Le programme conjoint CGE-DKFZ en virologie tumorale: le parcours d'un réseau de recherche appliquée bi-national

Auteur: Pierre OUDET

Cancéropôle du Grand-Est (CGE)

E-mail: pierre.oudet@chru-strasbourg.fr

Résumé:

Le programme transversal de virologie tumorale appliquée mené depuis 2006 avec le DKFZ à Heidelberg est centré sur la carcinogenèse liée aux HPV responsables en particulier du cancer du col utérin qui est le 2^e cancer chez la femme au monde avec 240000 décès annuellement. Ce réseau de recherche fondamentale, clinique et appliquée vise à comprendre les mécanismes de cancérogenèse liés aux HPV, à identifier de nouveaux marqueurs diagnostiques et

pronostiques et à développer des approches vaccinales et thérapeutiques innovantes. Prévu sur une durée de 5 ans, il a bénéficié du côté français d'un soutien de l'INCa, du Ministère de la Recherche, de 3 régions du Grand-Est (Champagne-Ardenne, Franche-Comté et Alsace) et de la Ligue contre le Cancer (nationale et inter-régionale). Du côté allemand, les financeurs ont été le Ministère de la Recherche, la Fondation Helmholtz et la Région du Baden-Württemberg.

Il a réuni plus de 50 chercheurs et cliniciens oeuvrant en binômes ou trinômes au sein de 5 équipes du CGE, 1 du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC, Lyon) et 7 du DKFZ, sur des projets exploitant leurs expertises et les ressources biologiques, technologiques et hospitalières disponibles ainsi mutualisées. Des réunions d'étape annuelles organisées sur chaque site à tour de rôle et regroupant l'ensemble des participants au programme ont donné lieu à des rapports d'avancement. Un collège doctoral franco-allemand labellisé par l'Université franco-Allemande a été créé avec 8 thèses en co-tutelle.

Les avancées à mi-parcours ont été évaluées très favorablement en 2008 à Reims devant un comité d'experts international. Plus de 20 articles ont été publiés dans des revues scientifiques internationales, dont une dizaine conjointement. Les voies explorées sont les suivantes :

- mieux comprendre la progression tumorale virale induite : le rôle de Net - c-fos dans la réponse à l'hypoxie, les mécanismes d'instabilité génomique, l'impact de E6/7 dans les kératinocytes
 - identifier et valider de nouveaux marqueurs de la progression tumorale : la voie Net - c-fos, les paramètres viraux
 - découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques : la voie Net - c-fos, les interactions cellulaires de E6/7 impliquées dans la réponse aux UV, la dégradation de p53 et l'instabilité génomique
 - développer des stratégies thérapeutiques innovantes : la conception de vaccins contre les HPV cutanés, des virus oncolytiques hybrides ciblés, des associations chimiothérapeutiques synergiques
- Une réflexion entre les deux institutions est en cours afin d'élargir la collaboration à de nouveaux thèmes et de nouvelles équipes.

Session Génomique et Post-Génomique



Essential role of Microphthalmia transcription factor for DNA replication, mitosis and genomic stability in melanoma

Auteurs: Thomas STRUB², Sandy GIULIANO¹, Tao-YE², Caroline BONET¹, Céline KEIME², Dominique KOB², Stéphanie LEGRAS², Mireille CORMONT¹, Robert BALLOTTI¹, Corine BERTOLOTTO¹#, Irwin DAVIDSON²#

¹ Inserm U895, Nice; ² IGBMC, Strasbourg

E-mail: irwin@igbmc.u-strasbg.fr

Résumé:

Microphthalmia associated transcription factor (MITF) specifies the melanocyte lineage and regulates the proliferative and invasive properties of melanoma cells. Using ChIP-seq to identify a comprehensive set of MITF genomic binding sites and RNA-seq analysis of gene expression upon MITF silencing, we show direct MITF regulation of an extensive set of genes required for

DNA replication, repair and mitosis in melanoma cells. Consequently, MITF silencing results in severe replication and mitotic defects, and activation of the DNA damage response to promote cellular senescence. We demonstrate here a coordinate lineage-specific MITF control of mitotic fidelity and maintenance of genome stability suggesting that other bHLH family transcription factors may fulfill similar functions in other cell types. These observations explain how diminished MITF expression in melanoma lesions may favour genomic instability promoting the emergence of more aggressive metastatic cells.



Nuclear architecture and chromatin structure in genome integrity and DNA repair

Auteur : [Evanthia SOUTOGLOU](#)

IGBMC, Strasbourg

E-mail : evsou@igbmc.fr

Double-strand breaks (DSBs) are potentially deleterious lesions that can endanger genome integrity. Failure to properly repair them can produce tumorigenic translocations by illegitimate joining of chromosomal DNA ends from different chromosomes. Although there has been much progress in identifying specific repair factors that act as tumor suppressors, very little is known about how they function in the context of chromatin and how translocations form in vivo. We developed a cell system in which a DSB can specifically be induced at a defined genomic site and follow the fate of damaged DNA in living cells in real time (Soutoglou et al, Nature Cell Biology, 2007). We used this system to identify factors required for maintaining the alignment of broken ends. We also showed that unrepaired DSBs preferentially undergo translocations with neighboring chromosomes and loss of local positional constraints correlates with elevated genomic instability. These results provide insights into the cellular properties of DSBs and they support the notion that chromosome translocations predominantly form amongst spatially proximal DSBs.

We use a combination of advanced live cell imaging and biochemistry techniques to further test the importance of nuclear architecture in maintaining genomic integrity and to identify novel factors involved in DSB repair and alignment of broken chromosomes.



La poly(ADP-ribose) polymérase-3 : un nouvel acteur dans la maintenance de l'intégrité génomique

Auteurs : Christian BOEHLER, Laurent GAUTHIER, Oliver MORTUSEWICZ, Aurélie NOLL, Anne BRESSON, Valérie SCHREIBER, [Françoise DANTZER](#)

IREBS - FRE3211, ESBS, Strasbourg

E-mail : françoise.dantzer@unistra.fr

Résumé :

La poly(ADP-ribose)ylation est une modification post-traductionnelle de protéines catalysée par les poly(ADP-ribose) polymérases (Parps). Parp-1 et Parp-2, les plus étudiées, jouent un rôle fondamental dans la surveillance de l'intégrité du génome et ont été décrites comme des acteurs essentiels du système de réparation par excision de bases (1). Parp-1 synthétise localement au site du dommage du poly(ADP-ribose), molécule impliquée dans l'ouverture de la chromatine, le recrutement de facteurs de réparation et dans le contrôle du devenir de la cellule endommagée. Parp-1 est une cible thérapeutique prometteuse dans le traitement du cancer (essais cliniques de phase 2 en

cours) et de maladies inflammatoires, incitant de nombreuses compagnies pharmaceutiques à développer des inhibiteurs pharmacologiques spécifiques.

Depuis peu, nous avons initié un projet concernant la caractérisation fonctionnelle d'un nouveau membre de cette famille : la Parp-3. Cette protéine est encore très peu étudiée. La Parp-3 humaine a été identifiée comme un nouveau composant des centrosomes, machinerie cellulaire impliquée dans l'assemblage et l'organisation du fuseau mitotique (2). Des études récentes décrivent une association de Parp-3 avec des protéines impliquées dans la réparation des cassures dans l'ADN et des régulateurs transcriptionnels (3).

En combinant des approches biochimiques et cellulaires avec la génération de modèles animaux et cellulaires perte de fonction, nous décrivons Parp-3 comme un nouvel acteur de la réponse cellulaire aux dommages et la ségrégation mitotique. La déplétion de Parp-3 dans les cellules humaines entraîne une radiosensibilité élevée caractérisée par la persistance de cassures double-brins non réparées et des anomalies mitotiques. Sa disruption chez la souris induit le développement spontanée de tumeurs hépatiques.

- Schreiber V. et al. Nat. Review Mol. Cell Biol. 2006

- Augustin A. et al. J. Cell Science 2003

- Rouleau et al. J Cell Biochem. 2007



Contrôle de l'épissage des Cdc25 par des inhibiteurs de topoisomérases dans des lignées cellulaires de cancer du sein

Auteurs : [Hélène ALBERT](#)¹, Eric BATTAGLIA¹, Susana SANTOS², Carolino MONTEIRO², Denyse BAGREL¹

¹ Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Biochimie Pharmacologique, EA 3940, FR CNRS 2843, Université Paul Verlaine-Metz, Metz; ² Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Portugal

E-mail : albert2@univ-metz.fr, bagrel@univ-metz.fr

Résumé : Les phosphatases Cdc25 jouent un rôle important dans la progression du cycle cellulaire et sont surexprimées dans de nombreux cancers. Elles sont représentées par trois isoformes : Cdc25A, Cdc25B et Cdc25C, codées par trois gènes distincts et tous soumis à un mécanisme d'épissage alternatif. Ce mécanisme est un processus essentiel qui concerne 75 % des gènes humains et contribue ainsi à la diversité protéomique. De nombreuses études s'intéressent actuellement à la régulation de l'épissage alternatif de certains gènes en conditions de stress cellulaire mais aucune d'entre elles n'a jusqu'à présent été menée sur Cdc25. Nous avons observé par RT-PCR semi-quantitative qu'un traitement des cellules de carcinome mammaire humain MCF-7 par la doxorubicine (1 µM) n'affecte pas l'épissage des Cdc25A et B, alors qu'il induit une modification du profil d'épissage de Cdc25C au bout de 6 à 12 heures, en augmentant la proportion du variant C5 d'un facteur 10 par rapport au variant C1. Cette modification concerne d'ailleurs aussi bien l'ARNm que la protéine. La doxorubicine étant un inhibiteur de topoisomérase II et un générateur d'espèces réactives de l'oxygène, nous avons tenté d'évaluer la contribution de ces deux mécanismes distincts sur l'épissage des Cdc25. Pour cela, les cellules MCF-7 ont été traitées par des molécules générant un stress oxydant (H₂O₂ et *tert*-butyl hydroperoxyde). Aucune modification d'épissage des Cdc25 n'a été observée dans ces conditions. A l'inverse, un traitement par d'autres inhibiteurs de topoisomérases, ie l'étoposide (topoisomérase II) et la camptothécine

(topoisomérase I), induit un changement d'épissage de Cdc25C similaire à celui retrouvé avec la doxorubicine.

Ces travaux, qui doivent être complétés afin d'élucider les mécanismes de régulation mis en place, suggèrent que le contrôle de l'épissage sélectif des Cdc25C est sensible à l'inhibition des topoisomérases, indépendamment du stress oxydant.



Clustering fonctionnel de gènes à partir d'une mesure de similarité sémantique innovante : de nouvelles pistes pour l'interprétation des profils d'expression relatifs aux tumeurs

Auteurs: Sidahmed BENABDERRAHMANE, Malika SMAIL-TABBONE, Amedeo NAPOLI, Wolfgang RAFFELSBERGER, N.Hoan NGUYEN, Olivier POCH, Marie-Dominique DEVIGNES

LORIA UMR7503, CNRS-Nancy Université, Equipe Orpailleur, Nancy et IGBMC UMR 7104, CNRS-INSERM-Université de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : benabdsi@loria.fr

Résumé :

L'analyse fonctionnelle post-génomique repose notamment sur des calculs de similarité entre les gènes. Depuis quelques années, des mesures de *similarité d'annotations* sont venues compléter les mesures traditionnelles de similarité de séquences. Parmi les annotations utilisables, les termes GO (Gene Ontology) présentent deux avantages. D'une part ils sont organisés en trois vocabulaires contrôlés et hiérarchisés (fonction moléculaire, processus biologique, composant cellulaire). D'autre part les termes GO sont affectés aux gènes selon des processus d'annotation tracés par des codes d'évidence. De nombreuses mesures de similarité sémantique, c'est-à-dire prenant en compte la hiérarchie des termes GO, ont été proposées mais elles sont souvent validées de façon limitée et peu d'études ont été menées pour les comparer.

Nous avons conçu et développé la mesure IntelliGO, innovante et complète, qui prend en compte les codes d'évidence des annotations GO (<http://intelligo.loria.fr>). Nous avons mis en place une méthodologie pour valider et tester cette mesure en la comparant à d'autres. Nous utilisons des ensembles prédéfinis (« sets ») de gènes regroupés selon des processus biologiques communs (« pathways » KEGG) ou des fonctions moléculaires communes (« clans » PFAM). Nous définissons des calculs de similarités intra- et inter-set pour évaluer les performances des mesures de similarité testées.

La mesure IntelliGO fournit des résultats robustes et satisfaisants en terme de capture de la cohésion intra-set et de discrimination de l'appartenance des gènes à des sets disjoints. La mesure IntelliGO a été utilisée dans des approches de clustering fonctionnel dont les résultats ont été évalués par comparaison avec des sets de référence (pathways). L'étude du recouvrement entre clusters fonctionnels et pathways pourra être étendue au recouvrement entre clusters fonctionnels et profils d'expression lors de l'analyse des dérèglements moléculaires qui conduisent aux cancers.



Identification of proteomic biomarkers in ovarian cancer

Auteurs : C. TRUNTZER, J.-M. RIEDINGER, L. ARNOULD, L. FAVIER, F. MAYER, P. FUMOLEAU, P. DUCOROY

Plateforme Protéomique CLIPP, CHU Dijon

E-mail : caroline.truntzer@clipproteomic.fr

Résumé :

The prognosis of advanced ovarian cancers remains very poor, due to tumour extent at the time of diagnosis and to the limited efficacy of treatment for advanced stages. It would be extremely valuable for optimising therapeutic management to identify early indicators of the response to chemotherapy. Nowadays, biomedical research is making use of new technologies to improve the understanding of disease characteristics and drug resistance. In recent years, the use of mass spectrometry in particular has been increasing in this field.

In this retrospective study, this technology was applied to the identification of early prognosis markers. Plasma from 30 patients treated in the Georges-François Leclerc Center in Dijon were collected before and just after primary surgery, as well as after the first four chemotherapy courses. The follow-up of the patients studied ranged from 5.6 to 12.1 years (median = 8,6 years), and 83% of them died from their cancer. Plasma were treated and the resulting proteomic fractions were then analyzed through a MALDI-TOF mass spectrometer, which allows the separation and large-scale detection of proteins present in the complex biological mixture. Survival Cox models adapted to the high dimensional setting involved by spectrometric data were performed to identify relevant biomarkers. These models were performed at each stage of the treatment and led to the selection of potential biomarkers predictive of overall and relapse-free survival.

This study allowed the highlight of markers of overall and relapse-free survival. A further study is planned on a bigger cohort to confirm these first findings.

Session Relations Hôte-Tumeur



Rôle des HSPs dans le développement de la maladie du greffon contre l'hôte

Auteur: Carmen GARRIDO

InsERM U866, Dijon

E-mail: cgarrido@u-bourgogne.fr

Résumé:

Des études testent actuellement la capacité des HSPs, et plus particulièrement GP96 (un chaperonne de la famille HSP90), à se comporter comme adjuvants de peptides tumoraux dans le cadre de vaccins anticancéreux. Les HSPs délivreraient un « signal de danger » capable d'augmenter la réponse immunitaire dépendante des lymphocytes T. Notre objectif est d'étudier leur fonction dans la maladie du greffon contre l'hôte ou GvH (Graft versus Host Disease). La GvH survient chez des patients atteints de maladie hématologique grave nécessitant une greffe de moelle osseuse. Les lymphocytes T allogéniques du greffon assurent alors un rôle anti-leucémique mais parfois, malheureusement, s'activent contre les organes du patient, c'est pourquoi moduler le développement de la GvH représente un enjeu important. Nous avons mis au point au laboratoire un modèle murin mimant le développement de la GvH. En utilisant ce modèle, nous avons montré que HSP27, HSP70 et HSP90 sont surexprimées, à des jours précoces, à la surface des cellules issues des différents organes cibles de la GvH (foie, la rate, et les plaques de Peyer). Nous avons démontré que la protéine GP96 est présente dans le

sérum et son contenu augmente progressivement avec le développement de la GvH. Par une approche protéomique nous avons montré que le complément C3 s'associe à GP96 dans le sérum. Nous avons utilisé un peptide inhibiteur de GP96 (injection intrapéritonéale) dans notre modèle *in vivo*. Nos résultats ont démontré que l'inhibition de GP96 aggravait le développement de la GvH, peut-être en modulant la prise de greffe. Nous avons donc décidé de tester l'approche inverse. Après beaucoup de problèmes expérimentaux nous avons finalement réussi à purifier GP96 à partir du foie de souris syngénique aux receveuses. Nous allons procéder maintenant aux injections avec GP96 et déterminer si cela affecte le développement de la GvH.



Rôle des polynucléaires neutrophiles (PN) dans l'activité anti-tumorale du lipide A OM-174

Auteurs: Catherine PAUL, Alessandra SCAGLIARINI, Amandine MARTIN, Cédric SEIGNEZ, Nathalie DECOLOGNE, Cindy RACOEUR, Ali BETTAIEB, Jean-François JEANNIN

EPHE, Inserm U866, Université de Bourgogne, Dijon

E-mail: catherine.paul@u-bourgogne.fr

Résumé:

L'OM-174, un dérivé du lipide A (partie active des LPS), induit *in vivo* la régression ou l'inhibition de la prolifération de plusieurs types de tumeurs (colique, mammaire, mélanome). Chez le rat, nous avons montré que l'OM-174 guérit 95% des animaux porteurs de carcinomatoses péritonéales macroscopiques et que cet effet est corrélé à l'infiltration de la tumeur par des PN exprimant la NOSII (inducible nitric oxide synthase). Le microenvironnement tumoral présente alors de plus fortes concentrations de cytokines (IL-1 β , TNF α ...) et de chimiokines (GRO α , β , γ ...) favorisant l'activation et le recrutement de ces cellules. Notre projet est donc de déterminer le rôle des PN dans l'efficacité anti-tumorale de l'OM-174 et les mécanismes impliqués dans ce processus. Nous avons alors montré que l'OM-174 est moins efficace à induire la régression de tumeurs de mélanome dans des souris syngéniques C57BL/6 *Itgb2tm1Bay/J* présentant un défaut d'extravasation des PN, suggérant que ces cellules participent dans l'efficacité anti-tumorale du lipide A. Ces cellules sont activées par l'OM-174 (attesté par la diminution de la L-sélectine et l'augmentation de l'expression du CD11b et d'une molécule d'adhésion comme ICAM-1). Leur nombre est également augmenté aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, suggérant que l'OM-174 augmente la survie de ces cellules. Ce lipide A induit également dans les PN l'expression de plusieurs chimiokines inflammatoires dont certaines sont spécifiques de PN telles que GRO α .



Biogenèse des exosomes, un outil prometteur dans la lutte anti-tumorale

Auteur: Michel LABOUESSE

IGBMC, Strasbourg

E-mail: michel.labouesse@igbmc.u-strasbg.fr

Résumé:

Les exosomes sont des vésicules de 50 à 90 nm sécrétés lors de la fusion des corps multivésiculaires (CMV) avec la surface cellulaire. Les exosomes sécrétés par les cellules dendritiques suscitent un grand intérêt, car ils peuvent stimuler les réponses immunitaires anti-tumorales des souris, et sont actuellement utilisés dans des protocoles d'immuno-

thérapie.

Pour que les exosomes deviennent un outil thérapeutique performant, il est essentiel de bien connaître leur biogenèse, en définissant (i) comment les cellules incorporent des protéines dans des CMVs sécrétoires; (ii) comment les CMVs fusionnent avec la surface; (iii) s'il existe une relation entre composition des exosomes et leur potentiel anti-tumoral. Le projet « Exosome biogenesis and use in immunotherapy against tumors », qui rassemble 4 équipes (M. Labouesse, IGBMC; R. Le Borgne, UMR 6061; C. Théry et G. Raposo, Institut Curie) soutenues par l'INCA, a pour objectif de répondre à ces questions.

Mon équipe aborde les 2 premiers points en utilisant un modèle invertébré accessible à l'analyse cellulaire et génétique. Nous avons découvert que les cellules de l'épiderme chez le nématode *C. elegans* libèrent des exosomes à leur surface apicale. Ces exosomes contribuent à la formation de la cuticule chez cette espèce, et de manière intéressante contiennent des protéines apparentées au morphogène Hedgehog. En utilisant une approche génétique nous avons identifié et caractérisé le premier complexe nécessaire à la fusion des CMVs avec la membrane plasmique, à savoir le secteur V0 de la V-ATPase. En son absence, la structure de la cuticule est fortement altérée. Nous avons depuis identifié 18 nouveaux gènes dont la perte affecte la formation de la cuticule et le nombre des CMVs. Je décrirai nos plus récents progrès dans l'analyse de la fonction de ces gènes en relation avec la formation des exosomes.



Intérêt thérapeutique de l'inhibition du segment transmembranaire de la Neuropiline-1

Auteur: Dominique BAGNARD

Inserm U575, Strasbourg

E-mail: dominique.bagnard@inserm.fr

Nous avons récemment montré qu'un peptide synthétique imitant le domaine transmembranaire de NRP1 (pTM-NRP1) bloque la signalisation cellulaire de NRP1 (Roth et al., 2008 Mol Biol Cell). Nos travaux montrent par ailleurs que l'utilisation de cet antagoniste spécifique du domaine transmembranaire de NRP1 inhibe la croissance tumorale de gliomes de rat et de gliomes humains (Nasarre et al., 2010, Oncogene). Nous présenterons ici les détails de cette nouvelle stratégie thérapeutique qui s'avère applicable à d'autres récepteurs impliqués dans l'angiogenèse ou la croissance tumorale.



Tumor-selective apoptosis by TRAIL

Auteurs: Valeria Pavet^{1*}, Tao HE^{2*}, Danilo CESCHIN¹, Cathrin MUELLER¹, Harshal KHANWALKAR¹, Pekka KOHONEN², Olli KALLIONIEMI², Hinrich GRONEMEYER¹

¹ Department of Cancer Biology, IGBMC, Strasbourg; ² Medical Biotechnology, VTT Technical Research Centre of Finland, Turku, Finland

E-mail: valeriapavet@yahoo.com

Résumé:

Tumor Necrosis factor alpha related apoptosis inducing ligand (TRAIL) is the only endogenous molecule able to induce apoptosis in tumor cells while sparing normal ones. This selectivity of TRAIL represents a unique opportunity for targeted cancer treatment, though the acquisition of TRAIL resistance in tumors has been reported. One of our main interests is to identify the molecular mechanisms that modulate TRAIL sensitivity

in cancer cells. For this purpose, we use cellular models of tumorigenesis, in which normal cells are first immortalized and then transformed by introduction of defined genetic elements. These systems represent the minimal genetic changes required for transformation and allow the direct comparison of a cancer cell with its normal counterpart. We have observed that whereas normal cells are resistant to TRAIL-induced apoptosis, they become responsive while progressing towards the transformed phenotype. To gain insight into the mechanisms involved in TRAIL sensitization, a comparative transcriptomic profile of normal, immortalized and tumor cells was performed, followed by a siRNA high throughput screen targeting those genes which expression was enhanced in TRAIL-sensitive cells. TRAIL sensitive gene 1 (TSG1) was among the positive hits obtained, Levels of TSG1 transcripts increase in the transition from normal to transformed cell and TSG1 knockdown rescued cancer cells from different tissue origins from TRAIL-induced apoptosis. Data mining analyses of transcriptomics data from primary tumors demonstrate that TSG1 is highly expressed in human cancer arising from different tissues, and is particularly elevated in those with enhanced aggressiveness and poor clinical outcome. Our aims are: 1- to elucidate the molecular mechanisms by which TSG1 regulates TRAIL induced apoptosis and 2- to determine whether TSG1 is a biomarker of TRAIL sensitivity *in vivo*.



In vivo study of the tumor protective action of TRAIL, transgenic mouse models

Auteurs: Valérie KEDINGER, Catherine HUCK, Judith VALLET, Stéphanie MULLER, Hinrich GRONEMEYER
IGBMC, Strasbourg

E-mail : vked@igbmc.fr

Résumé :

TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand), a ligand of the TNF family, has the unique characteristic of inducing apoptosis in tumor cells, while sparing normal ones. Indeed, TRAIL deficient mice are more susceptible to tumor development. Yet, most of the evidence supporting this tumor selectivity were obtained from *in vitro* experiments. Therefore, in order to clearly establish the tumor protective action of TRAIL *in vivo*, we generated several transgenic mouse models.

First, we generated a mouse line in which TRAIL expression is controlled by the human keratin 14 promoter. These mice specifically express TRAIL in the basal cell layer of the epidermis. To test the tumor protective action of the cytokine, we subjected these mice to a two step DMBA/TPA chemical carcinogenesis. This treatment causes a sustained hyperplasia and inflammation, and then a selective clonal expansion into benign papillomas, which can eventually progress into squamous cell carcinomas. Our results show a delay of tumor appearance in TRAIL expressing mice compared to wild-type mice. More importantly, the number of tumors is significantly lower in transgenic mice compared to control mice, and the lesions observed in transgenic animals are mostly benign, only few being preneoplastic.

Our second model is a knock-in model, in which TRAIL cDNA preceded by a floxed Neo cassette was placed in the ubiquitous ROSA26 locus. We have crossed these mice with mice expressing the Cre recombinase under the control of the CMV promoter in order to allow a ubiquitous over-expression of TRAIL. These mice were then crossed with MMTV-ErbB2 mice, an established mouse model of breast cancer. Tumor appearance in

double transgenic animals is currently being monitored in order to compare it to that of ErbB2 mice. In parallel, we envisage to perform an injection of syngenic tumor cells, the 4T1 cells, to assess the role of TRAIL expression in the microenvironment of the tumor.

29 octobre

Résumés des interventions

Session

Outils de Détection et de Prise en Charge



Imagerie et thérapie photodynamique appliquées aux tumeurs cérébrales

Auteur: Muriel BARBERI-HEYOB

CRAN UMR 7039, CNRS, Nancy-Université

E-mail: m.barberi@nancy.fnclcc.fr

Résumé:

Un des défis en cancérologie est de déterminer l'extension réelle d'une tumeur et plus précisément des zones à traiter. Notre projet a pour objectif d'optimiser et d'évaluer le potentiel de nanoparticules multifonctionnelles qui pourront apporter une réponse à cette problématique en thérapie photodynamique interstitielle (PDTi) appliquée aux tumeurs astrocytaires de haut grade. Notre stratégie consiste à asphyxier la tumeur en ciblant les cellules endothéliales vasculaires de phénotype angiogénique. Au départ, cette approche vasculaire de la PDT a été envisagée en couplant un photosensibilisateur à un peptide ciblant neuropiline-1 (*J Control Release*, 2006). L'efficacité vasculaire après PDT a été validée *in vivo* sur un modèle de gliome malin humain xénotreffé (*Photochem Photobiol Sci*, 2008 ; *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, *Pharm Res*, 2010). Des améliorations devaient être apportées pour réduire les phénomènes d'incorporation non spécifiques, résultant du caractère agrégé du conjugué rendu moins affiné pour sa cible et d'une capture importante par le système réticulo-histiocytaire aboutissant à une dégradation du peptide (*Drug Metabol Disp*, 2007). La solution envisagée est d'utiliser des nanoparticules multifonctionnelles vecteur du photosensibilisateur et fonctionnalisées par le peptide d'adressage (*Trends Biotechnol*, 2009, *Biochem Pharmacol*, 2010). Leur petite taille et leur structure chimique, associées à des propriétés photophysiques originales, font des nanoparticules multifonctionnelles sélectionnées des outils adaptés à une action combinée en IRM et PDTi. Leur biodistribution est favorable à une stratégie d'adressage en PDT, avec une rémanence sanguine suffisante pour l'accessibilité du vecteur fonctionnalisé, une sélectivité tumorale, une captation hépatosplénique faible et une élimination rapide des nanoparticules non captées par le système de phagocytes mononucléés.

Partenaires : Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents (LPCML, Olivier Tillement) Lyon, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés (LRGP, Céline Frochet) Nancy, Laboratoire de Chimie-Physique Macromoléculaire (LCPM, Régis Vanderesse)

Nancy, Centre d'Etude et de Recherche Multimodal Et Pluridisciplinaire en imagerie du vivant (CERMEP, Claire Billotey) Lyon, Thérapies Interventionnelles Assistées par l'Image et la Stimulation (THIAIS U703, Serge Mordon) Lille.



Le projet CARMen: recherche de marqueurs métaboliques de malignité et de pronostic

Auteur: [Izzie Jacques NAMER](mailto:Izzie.Jacques.NAMER@chru-strasbourg.fr)

Service de Biophysique et Médecine Nucléaire, CHU Strasbourg, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg

E-mail: Izzie.Jacques.NAMER@chru-strasbourg.fr

L'apparition de la technique dite « HRMAS » (High Resolution Magic Angle Spinning – haute résolution en rotation à l'angle magique) en 1994, et ses premières applications aux tissus biologiques en 1997, a permis de détecter des métabolites directement à l'intérieur de tissus intacts. Une extension dans le champ biomédical a été réalisée au sein des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS) dans le cadre d'un PHRC régional portant sur la recherche de marqueurs moléculaires et métaboliques diagnostiques de tumeurs cérébrales (2003-2006). Le projet a pris une nouvelle ampleur avec l'implantation en 2007, au sein même du Service d'Anatomie Pathologique des HUS, d'un spectromètre RMN 500 MHz (11,7 T). L'objectif général de cette démarche est de créer une base de données de la métabolomique en cancérologie, afin d'inclure, à côté des données de l'histopathologie et de la biologie moléculaire, les profils métaboliques dans l'évaluation et la classification des tumeurs. Reposant sur un partenariat avec le l'Université de Strasbourg, le CNRS et l'industriel Bruker BioSpin, ce projet nommé CARMen (Cancer RMN) porte sur la recherche de marqueurs métaboliques de malignité et de pronostic. Son objectif spécifique est d'étudier tous les domaines de la cancérologie où il existe soit une dissociation entre le diagnostic histopathologique et le devenir du patient, soit une discordance à la réponse thérapeutique pour un sous-type de tumeur.



Cryoablation des tumeurs sous contrôle de l'imagerie scanner et IRM

Auteurs : A. [GANGLI](mailto:gangi@rad6.u-strasbg.fr), X. BUY, J. GARNON, P. ZICKLER

Radiologie B, CHU Strasbourg

E-mail : gangi@rad6.u-strasbg.fr

Résumé :

La thermoablation percutanée fait partie aujourd'hui de l'arsenal thérapeutique des traitements de tumeurs en oncologie. L'ablation des tumeurs hépatiques est pratiquée depuis plus de 15 ans par voie percutanée, et aujourd'hui des ablations de tumeurs pulmonaires, rénales et osseuses sont pratiquées de manière courante par voie percutanée. Les ablations thermiques peuvent être réalisées par le chaud avec la radiofréquence, le laser et les micro-ondes, mais aussi par le froid : la cryoablation.

La cryoablation est pratiquée depuis plusieurs décennies avec l'azote liquide. Cette technique ne permettait pas une utilisation percutanée étant donné la congélation de tout le trajet des sondes. Avec l'arrivée des sondes de cryoablation utilisant l'effet Thomson-Joule avec la décompression des gaz cryogènes (argon), celles-ci permettent un abord percutané des tumeurs avec des congélations tumorales à -183°. La technique est très similaire aux autres techniques thermiques d'ablation avec mise en

place de plusieurs cryo-sondes dans la tumeur. Le nombre de sondes peut aller jusqu'à 25 selon la taille de la tumeur. Ces sondes peuvent être utilisées en simultané et la forme de la glace peut être modifiée selon le type de cryo-sonde utilisé.

Les avantages de la cryoablation par rapport aux autres techniques de thermo-ablation sont : la visibilité très nette du glaçon permettant ainsi de très bien délimiter la zone d'ablation, ce qui n'est pas le cas des autres techniques d'ablation, le caractère beaucoup moins douloureux que les techniques thermiques par le chaud, enfin une résorption plus rapide de la tumeur par la suite.

Cette technique peut être utilisée sous guidage de l'échographie avec l'inconvénient qu'après la formation des glaçons, la partie profonde de la glace n'est plus visible (phénomène de cône d'ombre). C'est donc pour cela que les techniques de guidage le plus souvent utilisées sont le scanner et surtout l'IRM qui permettent une très bonne délimitation du glaçon produit en augmentant ainsi la précision des ablations et diminuant le nombre de récidives.



MIOTherIS : multi-thérapie locale de tumeurs et de métastases combinant une injection de vapeur d'eau surchauffée et une administration locale de chimiothérapie

Auteur: [Sophie HUMBERT](mailto:shumbert@cerma-med.com)

CERMA, Archamps

E-mail: shumbert@cerma-med.com

Résumé:

La prise en charge des patients atteints d'un cancer nécessite généralement une approche multi thérapeutique, permettant par un effet de synergie d'améliorer significativement l'efficacité des traitements et impliquant de faire appel à des équipes pluridisciplinaires. C'est dans cette optique que le projet MIOTherIS – micro innovative oncotherapeutic injection system – a été initié. Ce projet vise à développer un dispositif médical dont le concept est basé sur l'injection contrôlée in situ de tout type d'actifs. Cette technique, totalement innovante, est sans équivalent par sa capacité à intégrer les progrès les plus récents des traitements contre les cancers, en détruisant physiquement la masse tumorale par l'injection de micro volumes de vapeur d'eau au cœur de la tumeur, le traitement pouvant être complété par l'injection d'agents chimiques, immunologiques, biologiques ou radioactifs.

Après une présentation des objectifs du projet MIOTherIS et du consortium, composé de 6 partenaires académiques et industriels les premiers résultats du projet seront discutés avant de conclure sur les étapes futures.



Apport de l'imagerie par fluorescence et bioluminescence en cancérologie

Auteurs : [Nadège BAUMLIN](mailto:nadege.baumlin@inserm.u-strasbg.fr), Laure THOMAS, Laurent JACOB, Gérard CREMEL, Guy ROUSSEL, Dominique BAGNARD, Gertraud OREND

Inserm U682, Strasbourg

E-mail: nadege.baumlin@inserm.u-strasbg.fr

Résumé :

Dans le cadre d'études précliniques et afin de compléter et d'améliorer le suivi et la détection de tumeurs chez l'animal, notre équipe a développé une méthode d'imagerie in vivo utilisant le système

NightOwl de Berthold. Cette approche permet une observation, sur animal entier et anesthésié, par fluorescence ou par luminescence de la croissance tumorale ou de la distribution de composés fluorescents.

Nous procédons actuellement à des études de biodistribution d'un peptide anti-tumoral dirigé contre le récepteur NRP1 et nos résultats montrent une large distribution quinze minutes post-injection. Nous recherchons la colocalisation du signal fluorescent avec le signal bioluminescent émis par des cellules tumorales (U373-luc) injectées en sous-cutané mais également la colocalisation du peptide fluorescent dans des tumeurs intracrâniennes obtenues par implantation de cellules U373 cherry.

Cette approche devrait permettre d'améliorer nos connaissances sur le ciblage des tumeurs par le peptide NRP1, administré sous sa forme native ou vectorisée.

Session Recherche Translationnelle



Prognostic and predictive values of high-resolution molecular DNA markers in non-small cell lung cancers (NSCLC) of IFCT-00-02 trial (Phase III study comparing a preoperative and a perioperative chemotherapy with two different chemotherapy regimens in resectable NSCLC)

Auteurs: M. BEAU-FALLER¹, M. GUENNEUGUES², E. GUERIN¹, W. RAFFELSBERGER³, O. POCH³, F. LEPRETRE⁴, M. FIGEAC⁴, L. BAUDRIN⁵, F. de FRAIPONT⁶, P. OUDET^{1,2}, G. ZALCMAN⁷

¹ Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU, EA4438, Strasbourg; ² Canceropôle du Grand-Est; ³ IGBMC, Strasbourg; ⁴ Plate-forme de génomique, Lille; ⁵ IFCT (Intergroupe Francophone de Cancérologie Thoracique); ⁶ Biochimie des cancers Grenoble; ⁷ ER13 INSERM Caen

E-mail: Michele.Faller@chru-strasbourg.fr

Scientific context: Early stages of non small-cell lung cancer (NSCLC) could benefit of complete resection, but five-years survival appeared less than 50%. Completely resected NSCLC patients frequently experience local or systemic relapse of their disease. In order to decrease the risk of relapse, combination of surgery and chemotherapy could be proposed. The aim of the clinical trial IFCT-00-02 is to determine optimal treatment schedules of stage I and II NSCLC patients. It is an open-labeled randomized phase III national multicentric trial in which two doublets of chemotherapy are administrated, one with cisplatin-gemcitabine and the other one with carboplatin-paclitaxel. At present, apart from clinical stage, there are no established cancer-specific clinical variables or biomarkers that reliably identify individuals at increased risk of death after surgical resection – individuals who could be candidates for adjuvant therapy or alternative management strategies. It is also no predictive molecular DNA of chemosensitivity.

Material and methods: This trial had included 528 consecutive patients, and lung tumor tissues were systematically collected to realize a unique tumor bank of NSCLC patients all with early stages and homogeneous treatments. We realize during this side-biological project BIO-IFCT-00-02 II, high resolution micro-arrays with Agilent Technologies (44K) on 100 snap-frozen tumors. An univariate analysis (Fisher exact test) followed by a multivariate analysis of

biological markers and clinical data (age, gender, histological type, TNM classification, and modalities of surgery) could be helpful to define different prognosis/predictive sub-groups of NSCLC patients.

Results: The population of the 100 selected frozen tumors appeared comparable to the whole group of patients (n= 528), excepted for histological criteria with more adenocarcinomas in the CGH array group (p = 0.002). Most frequent amplifications are observed for chromosomes 5p, 1q, 8q, 7p, 3q, 14q and 20q and most frequent deletions for chromosomes 9p, 8p, 3p, 13q, 17p, 18q. No significantly differing features were found when considering sex, tumor stage or chemotherapy treatment group. Squamous cell carcinoma displays a higher penetrance of gains of chromosomes 3 (SOX2, PI3KCA) and losses of 6p. Comparison of responders and non-responders points at the end of chromosome 10q (MGMT, FGFR2) being deleted more frequently in responders. Amplification of chromosome 1q (RRM2) and 7p is associated with a lower PFS (14.7 vs 48.6 months, p< 0.005 and 15 vs 49 months respectively). When combining 7p and 11q alterations, the altered group displays a mean OS of 25.5 months versus 56 months for patients not displaying these alterations.

Conclusions: CGH array could be useful to select candidates genes to be studied at a genomic level in order to select NSCLC for adjuvant chemotherapy.



S-nitrosylation of the death receptor Fas amplifies Fas ligand-mediated cancer cell apoptosis

Auteurs: Lissbeth LEON¹, Selvakumar SUBRAMANIAM¹, Olivier CAUVARD¹, Antonio MARTINEZ-RUIZ², Patrick LEGEMBRE³, Jean-François JEANNIN¹, Ali BETTAIEB¹

¹ EPHE-Inserm U866-Université de Bourgogne, Dijon, France; ² Servicio de Immunología, Hospital de la Princesa, Madrid, Spain; ³ CNRS UMR 5164, University of Bordeaux 2, Bordeaux

E-mail: ali.bettaieb@u-bourgogne.fr

Background & aims: The death receptor Fas is a member of the tumor necrosis factor receptor superfamily that when activated can induce apoptosis. Many cancer cells express the Fas receptor but do not succumb to Fas-mediated apoptosis. We have shown previously that the nitric oxide (NO) donor glyceryl trinitrate (GTN) reverses this resistance through an increase in expression and aggregation of Fas at the plasma membrane. The aim was to elucidate the mechanism by which NO affects Fas function.

Methods: Human and murine colon and mammary cancer cell lines were treated with GTN or a lipid A and S-nitrosylation of Fas was monitored using the biotin switch assay. Fas constructs mutated at cysteine residues subject to S-nitrosylation in the wild-type protein were used to investigate the involvement of S-nitrosylation in Fas trafficking and Fas-mediated cell death. Apoptosis was monitored according to morphological criteria.

Results: NO induced S-nitrosylation of cysteine residues 199 and 304 in the cytoplasmic part of the transmembrane Fas receptor. In cancer cells overexpressing wild-type Fas, S-nitrosylation induced Fas recruitment into lipid rafts and sensitized the cells to FasL. In cells expressing mutated Fas construct in which cysteine 304 are replaced by valine residue, the translocation of Fas into lipid rafts was affected and the synergistic effect of the GTN/FasL combination was significantly inhibited. These effects were not shown in cells expressing mutated Fas at cysteine 199.

Conclusion: We have identified a new post-translational modification of the Fas cytoplasmic domain. Nitrosylation on cysteine 304 favours the redistribution of the receptor to lipid rafts and induction of cell death.



Mutation KRAS et fonctionnalité des voies de signalisation en aval de l'EGFR dans les cancers colorectaux métastatiques: approche intégrée vers une meilleure prédiction de réponse

Auteurs: Anne-Sophie CHRETIEN^{1,2}, Géraldine PERKINS⁴, Astrid LIEVRE⁴, Marie HUSSON¹, Marie ROUYER¹, Carole RAMACCI¹, Valentin HARTER³, Pierre LAURENT-PUIG⁴, Jean-Louis MERLIN^{1,2}

¹ Unité de Biologie des Tumeurs, Centre A. Vautrin, Nancy; ² EA 4421 SiGReTO, Nancy Université; ³ Unité d'Activité et de Statistiques Médicales, Centre A. Vautrin, Nancy; ⁴ Université René Descartes, Inserm UMR775, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris

E-mail: as.chretien@nancy.fnclcc.fr

Introduction : Le statut mutationnel KRAS est actuellement le seul biomarqueur prédictif de réponse aux thérapies ciblées validé pour la prescription d'anticorps monoclonaux anti-EGFR (Erbix[®] et Vectibix[®]). Ce paramètre présente une valeur prédictive négative (VPN) proche de 100% mais sa valeur prédictive positive (VPP) demeure faible, de l'ordre de 50%. Il est donc nécessaire de mettre en évidence des biomarqueurs complémentaires au statut KRAS afin d'améliorer la sélection des patients à même de bénéficier d'une thérapie anti-EGFR.

Patients et méthodes : Des échantillons tumoraux congelés provenant de 45 adénocarcinomes colorectaux métastatiques traités par Erbix[®] ou Vectibix[®] ont été analysés. L'expression des phosphoprotéines de signalisation pMEK1, pERK1/2, pP90RSK (voie des MAPK), pAKT, pGSK3 β , pP70S6K (voie des PI3K/AKT), pP38MAPK et pEGFR ont été rétrospectivement analysées par phosphoprotein array. Les patients KRAS sauvages ont ensuite été classés en 2 groupes par analyse en composante principale (ACP) et analyse discriminante linéaire (LDA) permettant d'attribuer un score à chaque patient. La réponse tumorale a été évaluée (RECIST) ainsi que la durée de survie sans progression.

Résultats : Comparée au statut KRAS seul, l'ACP sur des données de phosphoprotéines combinées au statut KRAS augmente la sensibilité (97 vs 68%) et la VPP (89 vs 50%), mais diminue la spécificité (73 vs 100%) et la VPN (92 vs 100%). Les scores LDA sont significativement ($P=0.003$) plus élevés chez les patients répondeurs (0.36 ± 0.32) que chez les non répondeurs (0.77 ± 0.28) et permettent de prédire la réponse aux traitements chez 81% des patients KRAS sauvages.

Conclusion : L'analyse intégrée est adaptée à l'évaluation des combinaisons de biomarqueurs. Nos résultats montrent qu'elle permet d'intégrer la fonctionnalité des voies de signalisation en aval d'EGFR chez les patients KRAS sauvage et pourrait améliorer la prédiction de la réponse aux thérapies ciblées anti-EGFR.



Projet de structuration de la recherche translationnelle dans le cadre du développement de l'Institut Régional du Cancer d'Alsace (IRECAL)

Auteurs : Georges NOEL, Joseph ABECASSIS, Anaïs ALTMEYER, Michèle BEAU-FALLER, Pierre BISCHOFF, Joselyn CERALINE, Natacha ENTZ-WERLE, Marie-Pierre GAUB, Jean-Pierre GHNASSIA, Marc GUENNEUGUES, Dominique GUENOT, Eric GUERIN, Alain JUNG, Delphine KLEIN, Jean-Emmanuel KURTZ, Sonia LEDRAPPIER, Erwan PENCHREACH, Ludivine RAMOLU, Michel VELTEN

Institut Régional du Cancer, Strasbourg

E-mail : gnoel@strasbourg.fnclcc.fr

Résumé:

Unification de deux Equipes d'Accueil visant à fédérer au sein d'une seule entité, les ressources scientifiques, technologiques et humaines afin de valoriser une recherche translationnelle en cancérologie dans des objectifs communs : i) identification et validation de marqueurs pronostiques de l'évolution métastatique, ii/ caractérisation de marqueurs prédictifs de la réponse thérapeutique, iii) compréhension des modes d'action des agents thérapeutiques (médicaments et rayonnements ionisants) et de leurs mécanismes d'échappement, iv) évaluation de nouvelles modalités thérapeutiques validées par des études précliniques avant d'être transposées dans des essais cliniques de phases précoces. Les études concerneront les cancers bronchiques, colo-rectaux, ORL, de la prostate, sarcome, et cérébraux.

Nos thèmes sont les analyses i/ des altérations génomiques et transcriptionnelles dans les processus de dissémination métastatique, ii/ de l'implication des récepteurs hormonaux dans la progression tumorale et l'échappement thérapeutique, iii/ de la voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR impliquant des récepteurs à tyrosine kinase en relation avec les différentes localisations tumorales d'intérêt (EGFR...), iv/ de l'hypoxie intratumorale (HIFs, Net...) et v/ de chimiokines et de leurs récepteurs cibles des facteurs HIFs (CXCL12, CXCR4...).

Nous avons mutualisé nos ressources technologiques, dans le cadre d'une approche moléculaire, cellulaire et animale. Nous bénéficions de la plateforme d'irradiation. Les deux groupes mettent en commun les collections de tumeurs humaines, labellisées INSERM et INCa. Grâce à la plateforme épidémiologique, cette nouvelle équipe bénéficie d'une expertise pour la constitution de base de données, d'un soutien méthodologique et du développement d'un centre d'Investigation Clinique en Cancérologie pour la réalisation d'essais thérapeutiques.

La structure de cette équipe, composée de chercheurs, d'hospitalo-universitaires, de cliniciens, et de doctorants, est un atout majeur pour la réalisation d'une recherche translationnelle en cancérologie. L'approche préclinique et clinique permet de proposer des collaborations étroites aux équipes institutionnelles et/ou plus fondamentales, impliquées dans la recherche contre le cancer.



Impact d'un inhibiteur de l'aminopeptidase N/CD13 sur la croissance de xénogreffes de tumeurs coliques humaines

Auteurs : Manon VOEGELIN¹, Céline SCHMITT², Eric GUERIN¹, Madeleine JAILLET¹, Céline TARNUS², Dominique GUENOT¹

¹ EA 4438, Université de Strasbourg; ² UHA-ENSIC, Mulhouse

E-mail : manon.voegelin@inserm.u-strasbg.fr

Résumé:

Si la survie a augmenté de manière significative au

cours de la dernière décennie, le cancer colorectal demeure un problème majeur de santé publique par sa fréquence et par le nombre conséquent de patients rechutant au stade métastatique. Le potentiel métastatique serait associé à l'hypoxie tissulaire entraînant une plus grande fréquence de mutations, de dommages oxydatifs de l'ADN, l'inhibition de différentes voies de réparation et d'accumulation de lésions simple et double brins. Ces observations ont amené à l'élaboration de protocoles dits de « thérapies ciblées », intégrant un traitement par des anticorps aux chimiothérapies conventionnelles.

Cependant, l'efficacité de ces traitements combinés est insuffisante et entraîne in fine une accélération du processus métastatique et une résistance des tumeurs. En effet, l'hypoxie intra-tumorale induite par les drogues anti-angiogéniques favorise l'accumulation du facteur HIF-1 alpha, facteur de transcription régulant l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme énergétique / la glycolyse, l'angiogenèse et la dissémination métastatique.

Par conséquent, dans le but d'améliorer le potentiel anti-tumoral de la thérapie anti-angiogénique, nous avons développé une stratégie thérapeutique destinée à bloquer la néo-angiogenèse consécutive à l'hypoxie induite par le traitement anti-angiogénique. Une cible potentielle serait l'aminopeptidase N ou CD13, modulateur de la morphogénèse vasculaire et de la migration cellulaire mais dont les voies de signalisation sollicitées ne sont pas clairement identifiées. Nous avons récemment démontré dans des modèles de tumeurs coliques et de glioblastomes humains résistantes à l'irinotecan que la combinaison de l'irinotecan avec des inhibiteurs de la voie de mTOR, comme la rapamycine, aboutit à la mort des cellules cancéreuses et à d'importants effets anti-angiogéniques par la suppression complète de l'accumulation de HIF-1 alpha. Disposant d'inhibiteurs très sélectifs de CD13 (C. Tarnus, Wo8059141, 2008), nous avons testé un de ces inhibiteurs sur deux lignées cancéreuses (HCT-116, côlon et A673, rhabdosarcome) à l'aide du modèle de xénogreffes implantées chez la souris nue. Dans les deux types de cellules tumorales, l'inhibiteur entraîne un ralentissement de la croissance tumorale, mais dans des proportions moindres qu'avec l'Avastin. Cependant, le traitement d'une tumeur colique humaine avec la combinaison inhibiteur de CD13/rapamycine entraîne un arrêt de la croissance pendant la durée du traitement et sans reprise significative de la pousse deux semaines après l'arrêt du traitement. Ces données suggèrent que l'inhibition de l'activité de CD13 amplifie l'effet anti-angiogénique de la rapamycine pour bloquer la croissance tumorale.

L'analyse immunohistochimique des tumeurs traitées in vivo par la combinaison rapamycine/inhibiteur CD13 permettra de spécifier les voies de signalisation activées par CD13 dans la carcinogénèse colique humaine dans le but d'identifier de nouvelles associations thérapeutiques.



Neuropilin-2 expression promotes TGFβ1-mediated epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells

Auteurs : Camille GRANDCLEMENT^{1,2,3,4}, Romain BEDEL^{1,2,3}, Bernadette KANTELIPO⁴, John WIJDENES⁵, Martin DEMARCHI⁶, Adeline BOUARD^{1,2,3}, Jérémy BALLAND^{1,2,3}, Jean-Paul REMY-MARTIN^{1,2,3}, Michael KLAGSBRUN⁷, Christophe FERRAND^{1,2,3}, Xavier PIVOT^{1,2,3,6}, Pierre TIBERGHIE^{1,2,3}, Christophe BORG^{1,2,3,6}

¹ Inserm UMR 645, Besançon; ² University of Franche-Comté, IFR133, Besançon; ³ EFS Bourgogne Franche-Comté, Besançon; ⁴ CHU Besançon, Department of Pathology, Besançon; ⁵ Gen-Probe Diaclone SAS, Besançon; ⁶ CHU Besançon, CIC-BT 506, Department of Medical Oncology, Besançon; ⁷ Department of Surgery and Pathology, Children's Hospital, Boston, USA

E-mail : camille.grandclement@gmail.com

Background: Neuropilins (NRPs) are transmembrane non-tyrosine kinase glycoproteins originally described in the nervous system. The multiple functions of NRPs were recently highlighted by the identification of NRP role in oncogenesis. In this study, we first confirmed the role of NRP2 in tumor progression *in vitro* and *in vivo*. We also extended the understanding of NRP2 oncogenic functions by investigating the ability of NRP2 to orchestrate epithelial-mesenchymal transition (EMT) in colorectal cancer cells.

Methods: We first sought to examine the expression of NRP2 glycoprotein in various cancer cell lines and tumoral tissues by immunofluorescence analysis and immunohistochemical staining (IHC). Using specific siRNA to target NRP2 expression, or NRP2 gene transfer, we studied the influence of NRP2 expression on proliferation and tumor formation *in vitro* by MTT and soft agar assays and then *in vivo* using xenografts experiments. NRP2 induced-EMT was then investigated by flow cytometry, IHC and quantitative real-time PCR.

Results: Immunofluorescence analysis confirmed that NRP2 is expressed at the membrane of several human cancer cell lines. Our results first confirmed the role of NRP2 in cancer proliferation *in vitro* and xenograft formation *in vivo*. Analysis of NRP2 transfected cell lines and NRP2 expressing xenografts established that NRP2-expressing tumor cells displayed an immunohistochemical phenotype of EMT characterized by the loss of E-Cadherin and an increase of vimentin expression. Moreover, the expression of NRP2 on colon cancer cell lines was shown to promote transforming-growth factor-β1 (TGF-β1) signaling, leading to an increased phosphorylation of the Smad2/3 complex in colorectal cancer cell lines. Specific NRP2 inhibition using siRNA prevented the promoter effect of TGF-β1 on colony formation.

Conclusions: Our results suggest a direct role of NRP2 in EMT and highlight a cross-talk between NRP2 and TGF-β1 signaling to promote cancer progression.



Allogenic adoptive immunotherapy of the hepatocellular carcinoma by infusion of "ready-to-use" suicide gene-modified T lymphocytes

Auteurs : C. LEBOEUF¹, L. MAILLY¹, C. FERRAND², P. TIBERGHIE², G. BOUR³, M. APRAHAMIAN³, J.M. EGLY³, J. MARESCAUX³, M. DOFFOEL⁴, T.F. BAUMERT¹, E. ROBINET¹

¹ U748, Inserm U748, Strasbourg; ² Inserm U645, EFS Bourgogne/Franche-Comte, Besançon; ³ IRCAD, Strasbourg; ⁴ Service d'Hépatogastro-Entérologie, CHU Strasbourg

E-mail : celine.leboeuf@unistra.fr

Résumé :

Suicide gene therapy using alloreactive T cells is an efficient immunotherapeutic strategy for hematologic malignancies. We hypothesized that solid tumors, such as hepatocellular carcinoma (HCC) could be targeted by intratumoral infusion of allogeneic T cells produced from normal donors: the tumor cells would be recognized, not as being tumoral, but as being allogeneic. The prior introduction into such T cells of a

suicide gene encoding the herpes simplex virus thymidine kinase (HSV-tk) that confers sensitivity to a pro-drug, ganciclovir, would allow controlling their potentially deleterious alloreactivity toward normal patient's tissues, as we demonstrated in bone marrow-transplanted patients (Tiberghien et al, Blood 2001) with >10 years follow-up (Deschamps et al, Blood 2007).

We aim to demonstrate the feasibility of this approach and to create a bank of "ready-to-use" allogeneic gene-modified T cells (GMC) for the treatment of solid tumors. Normal donors' peripheral blood mononuclear cells (PBMC) activated by CD3 monoclonal antibodies and Interleukin (IL)-2 were retrovirally transduced at d3 with a vector encoding a CD34/HSV-tk fusion protein. CD34+ sorted GMC were expanded with IL-2 until d14 and assessed for in vitro and in vivo cytotoxicity against Huh7 cells.

Allogeneic GMC exhibited a strong in vitro cytotoxic activity against Huh7 cells (>80% cell lysis at an effector:target ratio = 4:1 after 24h coculture) while PBMC were weakly cytotoxic (no lysis of Huh7 cells after 24h co-incubation and < 30% lysis at d6 of coculture at an E:T ratio = 40:1). Ex vivo-expanded but non transduced control cells were similarly cytotoxic as GMC, indicating that the retroviral transduction did not affect the cytotoxic activity. Similar results were observed when GMC and Huh7 cells were subcutaneously co-injected in Rag2/gc-KO immunodeficient mice. A tumor regression was also observed when Huh7 cells were intrasplenically injected (in order to target the liver homing) 4 days before intravenous injection of GMC. Finally, the cyclosporine A (CsA) does not inhibit the cytotoxic activity of GMC in vivo and in vitro, but prevents their rejection in an immunocompetent murine model.

Our results suggest that alloreactive GMC may represent a novel strategy for treatment of HCC which deserves further evaluation in vivo.



Constitutively active androgen receptor in prostate cancer : molecular mechanisms of action and interconnection with tyrosine kinases pathways

Auteurs: P. BARTHÉLÉMY, I. ASMANE, G. MARCIAS, E. ERDMANN, C. SIEBERT, A. TOSCH, J.E. KURTZ, J.P. BERGERAT, J. CÉRALINE

Université de Strasbourg, EA4438 Signalisation et Cancer de la Prostate, Strasbourg

E-mail: irene.asmane@wanadoo.fr, ceraline@unistra.fr

Résumé : Prostate Cancer (PCa) emerges as a public health concern in the view of population ageing. Although androgen deprivation remains a standard treatment, most cases ultimately progress towards a hormone-refractory PCa (HRPC). Carboxy-terminal end (CTE)-truncated ARs resulting from nonsense mutations or aberrant splicing are recurrent in HRPC. However, molecular determinants of their mode of action are poorly understood. In this study, we demonstrated that interconnection with receptor tyrosine kinases pathways is required for both activation and function of CTE-truncated ARs.

LNCaP cells overexpressing CTE-truncated AR were incubated with specific inhibitors of receptor tyrosine kinases (RTK) or their downstream intracellular effectors. Transcriptional activities of CTE-truncated AR were evaluated by using MMTV-luciferase reporter construct. Crosstalk with transcription factors (TF) involved in cell proliferation and survival was studied in the presence of specific TF reporter constructs. Co-culture with prostate stromal cells was performed to

further evaluate the contribution of stroma on CTE-truncated AR function.

Our studies revealed that a crosstalk with PI3k/Akt and MAPK/Erk pathways was required for full transcriptional activities of CTE-truncated ARs. Indeed, CTE-truncated AR activity decreased by 30, 40 and 80% after exposure to 10 mM gefitinib, LY294002 and UO126, inhibitors of EGFR tyrosine kinase, PI3k and MEK1/2 respectively. CTE-truncated ARs are known to support PCa cells growth during androgen deprivation. Here, we demonstrated that over-expression of CTE-truncated AR in LNCaP cells resulted in a strong activity of AP-1 and NFAT. Co-culture experiments with prostate stromal cells led to a further 5-fold increase of this induced TFs activity.

Interconnection between RTKs and CTE-truncated ARs in PCa with a great contribution of the stroma may be determinant for hormone escape and could be the target of novel therapies.

Session Recherche Clinique Interventionnelle au sein du CGE



Dynamisation de la recherche clinique : l'expérience du Centre Georges-François Leclerc (CGFL) à Dijon

Auteur: Pierre FUMOLEAU

E-mail: pfumoleau@dijon.fnclcc.fr

Résumé :

Une activité de recherche clinique structurée par le Bureau d'Etude Clinique et Thérapeutique (BECT) au CGFL assure les essais cliniques de phase I, II et III, uni- ou multicentriques, académiques ou industriels, nationaux ou internationaux, en oncologie. Ce travail se fait en collaboration avec l'Unité de Biostatistiques et d'Epidémiologie (EA 4184) pour son expertise dans le design, le data management et l'analyse des essais cliniques et d'études épidémiologiques en cancérologie ainsi que la Plateforme "Qualité de vie et cancer", le département d'information médicale, les laboratoires de biologie, les services de radiodiagnostic (scanner, IRM, IRM dynamique) et le service de médecine nucléaire (PET scan).

Plus particulièrement, le BECT assure la gestion des essais à la fois sur le plan administratif, réglementaire (CPP, AFSSAPS) et juridique. Il s'assure de la bonne réalisation de ces essais selon les standards en vigueur. Pour cela, diverses procédures qualité ont été établies pour chaque étape du protocole afin de veiller au bon déroulement de l'essai avant même sa mise en place.

L'unité de phase 1 du CGFL, créée en 2001, dispose d'une autorisation à mener des recherches biomédicales de phase 1 et phase 2 précoce conformément aux termes de l'article L1121-13 du code de santé publique. Elle est sous la responsabilité du Dr Isambert. Cette unité dispose de ressources humaines dédiées regroupant l'ensemble des différents métiers impliqués dans la réalisation d'un essai de phase précoce, à savoir 3 Investigateurs Cliniciens, 4 Infirmières Diplômées d'Etat dont 2 ayant aussi des compétences reconnues pour une activité d'Attaché de Recherche Cliniques (ARC), 1,5 Techniciennes d'Etudes Cliniques (TEC) et plusieurs ARC rattachées au BECT. Les techniciennes de laboratoires sont formées aux exigences de chaque protocole ainsi que les Pharmaciens responsables. Ces différents intervenants

sont impliqués dès la visite de sélection et durant tout le déroulement de l'essai.

Cette unité est située au sein d'un service d'hospitalisation et comprend 4 chambres individuelles dédiées équipées de tous les éléments nécessaires à la réalisation de ce type d'études. Elle s'appuie aussi sur les 3 lits supplémentaires situés au sein du Centre d'Investigation Clinique Plurithématique (CIC-P), structure commune CGFL – CHU Dijon labellisée par l'INSERM. En son sein y sont conduites des études académiques ou industrielles, avec un souci constant d'interface entre recherche clinique et recherche de transfert par l'implication des laboratoires universitaires, reposant en partie sur le développement de nouvelles techniques comme la protéomique, la biologie moléculaire ou l'imagerie fonctionnelle (TEP, scanner, IRM dynamique...). Nous travaillons ainsi sur la recherche de facteurs prédictifs d'efficacité afin de déterminer les sous-groupes de patients pouvant bénéficier de ces avancées thérapeutiques ou encore d'évaluer précocement la réponse des patients aux traitements administrés afin de modifier ces derniers en cas d'inefficacité.

Les médecins rattachés à l'unité assurent un suivi constant et sécurisé des patients inclus dans ces études. Une consultation spécifiquement dédiée phase 1 a été mise en place, visant notamment à vérifier l'éligibilité des patients dans les différentes études et à organiser leur inclusion. Elle est suivie d'une consultation infirmière au cours de laquelle on s'assure de la bonne compréhension de l'étude par le patient. Cette démarche s'inscrit d'ailleurs dans les procédures qualité que l'on retrouve à tous les niveaux de la recherche clinique.

Importance de la recherche clinique au CGFL

La recherche clinique représente donc une activité importante et croissante du CGFL. Sur les trois dernières années, le centre a participé à 217 études cliniques intéressant la cancérologie, soit en moyenne 72 études par an. Sur cette même période, 1553 patients ont été inclus dans ces études, soit une moyenne de plus de 500 patients par an. Une majorité de ces études reposent sur des promoteurs académiques (56%) et sur des industriels (43%). Le Centre assure également une promotion directe d'un nombre d'études : 8 sur les 3 dernières années. La grande majorité des études réalisées sont des études « thérapeutiques » (169 sur 217 soit près de 80%). En ordre de grandeur, en 2009, 18,25% des patients traités au CGFL ont été inclus dans un protocole de recherche clinique, ce qui positionne le centre au premier rang des Centres de Lutte contre le Cancer, la moyenne nationale se situant à environ 12,69%.

Plus particulièrement, 35 études de phase 1 ont été conduites au CGFL depuis 2004 dont 11 de promotion académique et 4 de promotion CGFL. Cette activité en recherche précoce représente un chiffre d'inclusion cumulée de 313 patients à fin juin 2010.

Cette recherche clinique doit s'articuler avec :

1/ Une recherche translationnelle

Une activité de recherche de transfert est réalisée au sein du Laboratoire de Biologie Moléculaire et du Laboratoire d'Anatomopathologie du CGFL, en collaboration avec

- les équipes de recherche du CRI 866, ses plateaux techniques, développant notamment dans le cadre d'un contrat d'Interface INSERM une plateforme intitulée « criblage des voies de signalisation de kinase par puces protéiques » qui a pour objectif de permettre le suivi de l'activité des kinases dans des échantillons tumoraux de patients traités par de nouvelles drogues telles que les inhibiteurs de kinase (TKI) ou les anticorps ciblant les récepteurs de la famille HER. Cette

collaboration associe aussi la Plateforme protéomique clinique du Cancéropôle du Grand-Est (plateforme CLIPP) qui étudie l'apport des techniques de protéomique analytique et clinique, de spectrométrie de masse pour la recherche de nouveaux marqueurs et la caractérisation de protéines impliquées dans la cancérogénèse, ainsi que des sociétés privées (Oncodesign, Fournier-Pharma) dans le contexte d'études pré-cliniques ou cliniques. La recherche en imagerie fonctionnelle est assurée au sein du consortium PHARMIMAGE (www.pharmimage.fr): apport des techniques de spectroscopie, de RMN, de RMN dynamique et de TEP dans l'évaluation précoce de l'effet thérapeutique des nouvelles drogues ou nouvelles stratégies thérapeutiques.

2/ Une recherche épidémiologique

La recherche épidémiologique sur les cancers digestifs, les hémopathies malignes, les cancers du sein et les cancers gynécologiques est assurée au sein de l'équipe INSERM 106, du Centre d'épidémiologie des populations (registres soutenus par l'INSERM) et du Centre d'Investigation Clinique (CIC-EC Inserm). Cette recherche associe des registres départementaux à une épidémiologie biologique ou interventionnelle et à la gestion des essais cliniques de phase III et IV.

3/ Une recherche en Sciences Humaines et Qualité de Vie

La plate-forme Qualité de Vie et Cancer, labellisée par la Ligue Nationale contre le Cancer, a pour but de favoriser l'utilisation de la qualité de vie comme critère de jugement en cancérologie. Elle s'appuie sur un réseau d'épidémiologistes-méthodologistes spécialisés et de cliniciens du Cancéropôle du Grand-Est.

4/ Un centre de Ressources Biologiques

Un Centre de Ressources Biologiques situé au CHU est labellisé par l'INSERM et la DHOS, rassemblant des collections de tumeurs et d'échantillons sériques et cellulaires (cancers coliques, hémopathies malignes). Le CGFL a également une collection (tumorothèque) concernant le cancer du sein. Ces collections, constituées dans différents contextes (notamment études épidémiologiques et protocoles thérapeutiques) servent de base à des études biologiques de transfert (ex : SIGNAL 2).

5/ Le Cancéropôle du Grand-Est

Dans le contexte du Plan Cancer, la Bourgogne a été associée au Cancéropôle du Grand-Est. Un plateau technique de protéomique clinique a été mis en place et participe au développement de la recherche de transfert notamment sur les cancers du sein et les tumeurs de l'ovaire ainsi que sur des modèles animaux de cancers digestifs.

6/ Une Recherche Fondamentale

La recherche fondamentale (cancer digestifs, hémopathies malignes, cancers du sein) est organisée au sein du Centre de Recherche INSERM (CRI) U 866 Lipides/Nutrition Cancer. Les thèmes de recherche sont l'étude des mécanismes de la mort cellulaire, notamment celle induite par les agents cytotoxiques et les cellules du système immunitaire (étude de l'immunité naturelle antitumorale avant tout traitement, évolution de cette immunité intra-tumorale au cours des traitements cytotoxiques, modulation de cette activité anti-tumorale à des fins thérapeutiques), l'étude des relations entre mort cellulaire et différenciation et l'analyse des mécanismes de la réponse immunitaire antitumorale. Cette recherche implique des médecins, notamment hospitalo-universitaires, du CGFL et des étudiants en doctorat.



Dynamisation de la recherche Clinique : l'expérience de l'Institut Jean Godinot (IJG) à Reims

Auteurs : Hervé CURE, Jean-Christophe EYMARD, Jean Christophe CHARPENTIER

E-mail : herve.cure@reims.fnclcc.fr

Résumé :

L'IJG s'est imposé en Recherche Clinique dans les 3 dernières années, tel que le prouve sa position au sein des CLCC : il est passé de la dernière place en 2006 avec 2,7 % d'inclusions dans les essais thérapeutiques à partir de sa file active de patients, à la 9ème place avec un taux de 11,2 % en 2008, pour se hisser à la 5ème place en 2009 avec 14,7 % d'inclusions. De la sorte, depuis 2008, l'IJG est devenu le premier établissement de soins de l'Aisne et de la région Champagne-Ardenne sur cet indicateur. Ce résultat a été obtenu par une structuration volontariste de la Recherche Clinique qui a comporté :

- Le recrutement de 3,75 ETP d'Attachée de Recherche Clinique (ARC) qui se sont ajoutés à 1,25 ETP d'ARC (dont seulement 0,25 ETP d'ARC obtenus par le premier appel d'offre « renforcement des personnels en Recherche Clinique » de l'INCa en 2004, et aucun ARC issu de la 2ème vague en 2007) ;

- Le recrutement d'une ETP d'Infirmière de Recherche Clinique (IRC) ;

- La structuration d'un Bureau de Recherche Clinique (BRC) coordonné administrativement par le Dr Jean-Christophe Charpentier, Responsable du Département d'Information Médicale, assisté du Dr Jean-Christophe Eymard, ainsi que du Pr Hervé Curé, respectivement coordonnateur médical et coordonnateur stratégique du BRC ;

- La mobilisation de tout le corps médical clinicien dans une sorte d'EPP (Evaluation des Pratiques Professionnelles) collective et continue, avec pour chacun des thérapeutes de l'Institut, un objectif individuel en Recherche Clinique, évalué et reconduit chaque année ;

- Un soutien logistique fort de tous les services médico-techniques de l'Institut comprenant la Pharmacie, le Département de Biologie et Pathologie, le Service de Radiologie Générale et le Centre Sein Godinot ;

L'ouverture d'un nombre suffisant et nécessaire d'essais thérapeutiques pouvant couvrir le plus possible de situations cliniques relevant du recrutement spécifique de l'IJG. C'est ainsi que l'Institut a ouvert près de 80 protocoles, se répartissant en recherche académique pour 60 % et industrielle pour 40 %. Une Commission Technique de Recherche Clinique (CTRC) se réunit le premier lundi de chaque mois et joue le rôle de comité de revue des protocoles internes à l'établissement.

L'IJG a maintenant en perspective de développer la promotion des essais cliniques (c'est déjà le cas avec le protocole GETUG 04 du BECT de la Fédération), de coordonner la Recherche Clinique en cancérologie à l'échelon régional (c'est déjà le cas avec les villes de Chaumont et de St Dizier) et de s'organiser pour installer et développer les phases précoces (en cours).

Au total, avec la structuration de sa Recherche Clinique, l'IJG répond pleinement aux recommandations des Plans Cancer de faciliter l'accès à l'innovation thérapeutique pour tous. Par la Recherche Clinique, l'Institut amplifie sa politique d'amélioration de la qualité de prise en charge des patients champardennais qui se confient à l'établissement. C'est pourquoi, l'Institut a tenu à informer, le samedi 16 octobre à Reims, le Grand

Public et les Soignants dans le cadre d'Octobre Rose, de l'intérêt de la Recherche Clinique en cancérologie et tout particulièrement pour le cancer du sein.



La recherche clinique au CHU de Strasbourg dans le cadre de l'oncologie thoracique : les essais académiques et les essais sponsorisés par l'industrie pharmaceutique

Auteurs : Elisabeth QUOIX, Michèle BEAU-FALLER, Michel VELTEN, Linda SAKHRI, Pierre OUDET

Pôle de Pathologie Thoracique, Service de Pneumologie

E-mail : elisabeth.quoix@chru-strasbourg.fr

Résumé :

La recherche clinique fait partie des missions principales d'un CHU. Pour autant, son organisation et son financement n'ont pas fait l'objet jusqu'à ces dernières années d'une attention particulière des instances hospitalières.

La recherche clinique dans le domaine de l'oncologie thoracique aux Hôpitaux Universitaires de Strasbourg peut se décliner en une partie « académique » qui nécessite un financement et une partie « industrielle » qui rapporte de l'argent.

La partie académique comporte des études épidémiologiques menées avec le département d'épidémiologie de la Faculté de Médecine (Pr Velten), des études translationnelles avec le Service de Biologie Moléculaire (Pr Oudet et Dr Beau-Faller) mais aussi des essais thérapeutiques (qui comportent presque toujours un volet translationnel) menés dans le cadre de l'Intergroupe Francophone de Cancérologie Thoracique. Cet intergroupe comporte des CHU, des CHG, des CLCC et des cliniques privées. Grâce à cet intergroupe, un essai thérapeutique coordonné par nous, mené chez la personne âgée de plus de 70 ans ayant un cancer bronchique non à petites cellules avancé a permis d'inclure en un peu plus de 3 ans, 451 patients et les résultats de cet essai ont été présentés en plénière à l'ASCO cette année.

La partie « industrielle » concerne des essais sponsorisés par l'industrie pharmaceutique. Ils constituent le seul moyen de tester de nouvelles molécules au travers d'essais de phases I/II et III.

Le financement de notre recherche clinique repose tout d'abord sur une aide institutionnelle avec l'attribution d'un bureau des ARCs au sein du Nouvel Hôpital Civil, de 2 journées d'ARC. L'aide industrielle repose sur le CenGeps, géré par la DRCI et nous a attribué 3 1/2 journées d'ARC. Il faudrait d'ailleurs revoir les attributions des ARCs mis à disposition dans ce cadre. Les honoraires versés par l'industrie pour les essais thérapeutiques vont à notre association de recherche et servent essentiellement à rémunérer une ARC à temps plein et un ARC à 1/3 temps et un informaticien.



CIC-C Nancy : Exemple d'un continuum entre recherche de transfert et innovation diagnostique et thérapeutique

Auteurs : E. LUPORSI, P. CHASTAGNER, M. KAMINSKY, P. ROSSIGNOL

CHU et CLCC Alexis Vautrin, Nancy

E-mail : e.luporsi@nancy.fnclcc.fr

Un axe CIC-C (Centre d'Investigation Clinique de Cancérologie) a été mis en place fin 2008 pour privilégier la mise en place de phases précoces (0, « first in man », I, I/II, II/I, II précoce) dans les 2

établissements Centre Alexis Vautrin et CHU. Ces essais portent à la fois sur la recherche clinique en oncologie médicale, en chirurgie, et en radiothérapie. Ces projets sont associés à des études translationnelles de façon à proposer des essais cliniques avec critères de jugements cliniques mais aussi biologiques. Un des objectifs est de pouvoir définir des marqueurs intermédiaires de réponse et d'inclure ainsi en objectif principal ou secondaire l'imagerie fonctionnelle interventionnelle (Petscan, IRM 3D), la biologie moléculaire et/ou la génétique constitutionnelle. Il est important de privilégier cet axe biologique en parallèle avec les réponses cliniques en situation métastatique ou en situation adjuvante et quelles que soient les localisations cancéreuses allant de l'hématologie aux tumeurs solides.

L'évaluation de la réponse thérapeutique et de la maladie résiduelle par imagerie et biologie moléculaire est particulièrement adaptée pour les thérapeutiques ciblées et innovantes.

La recherche clinique institutionnelle est à privilégier dans le cadre de programmes hospitaliers type PHRC mais également dans le cadre d'un partenariat avec l'industrie pharmaceutique. L'accès aux thérapeutiques innovantes est essentiel pour les patients du secteur public ou privé et l'information par le réseau de cancérologie nous permettra de diffuser une information précise et validée.

Nous souhaitons privilégier également une démarche de collaboration en interrégion au sein du Cancéropôle du Grand-Est afin d'utiliser tous les moyens disponibles des équipes compétentes et reconnues, qu'il s'agisse de structures publiques ou privées.

L'interface entre recherche académique et industrielle est essentielle afin d'établir une complémentarité entre cliniciens et chercheurs académiques et industriels afin de diminuer les coûts de la recherche et du développement et d'augmenter ainsi les chances pour le nouveau médicament d'être dans une démarche de bénéfice - risque et coût - efficacité, basée sur des critères de jugement objectifs et précis tels que les biomarqueurs. Par ailleurs nous développons des essais sur de modèles bayésiens, et la stratégie de « data mining » ou fouille de données nous permettra d'intégrer un maximum de données, d'analyser ces données sans a priori en créant de nouvelles hypothèses. L'objectif est de proposer des scénarios et des stratégies au moyen de modélisation et de simulation de ces hypothèses.

Une collaboration accrue entre chercheurs, cliniciens, anatomopathologistes, radiologues, biologistes permettra d'associer dans une même démarche les différents acteurs de l'innovation diagnostique et thérapeutique.

Deux protocoles ont démarré, un CHU promoteur et un CAV promoteur dans le cadre de cette structure et d'autres sont en cours de finalisation ou de projets et seront présentés lors du Forum.



Création de la filière de soins « GE-HOPE » (Grand-Est – Hémato-Oncologie Pédiatrique)

Auteurs: P. CHASTAGNER¹, G. COUILLAULT², P. LUTZ³, M. MUNZER⁴, P.S. ROHRlich⁵

Services d'onco-hématologie pédiatrique : ¹ Nancy ; ² Dijon ; ³ Strasbourg ; ⁴ Reims ; ⁵ Besançon

E-mail: p.chastagner@chu-nancy.fr

Résumé:

Une organisation de filière de soins d'oncohématologie pédiatrique au sein de 7 interrégions françaises a été élaborée sous l'égide de l'INCa. Elle est fonctionnelle

depuis septembre 2010. L'interrégion Grand-Est est superposable à celle du Cancéropôle du Grand-Est, regroupant les centres de référence d'oncohématologie pédiatrique des CHU de Besançon, Dijon, Nancy, Reims et Strasbourg. Elle correspond : au recrutement d'environ 250 nouveaux cas de cancers chez l'enfant et l'adolescent (0-18 ans) ; à la réalisation de 30 autogreffes et 25 allogreffes de CSH ; à une trentaine de possibilités d'inclusion dans des essais de phase I-II. La prise en charge diagnostique est réalisée dans chaque centre, et la décision thérapeutique est décidée pour tous les cas de façon exhaustive dans le cadre de Réunions de Concertations Pluridisciplinaires interrégionales hebdomadaires par webconférences. La chimiothérapie est administrée dans le centre recruteur dans tous les cas hormis pour les essais thérapeutiques précoces où les enfants doivent être adressés dans les centres habilités. La radiothérapie est réalisée dans le centre recruteur dans la grande majorité des cas mais pour certaines localisations particulières, nécessitant une technique et/ou une expertise qui n'existe que dans un centre, l'enfant doit être adressé dans celui-ci. La chirurgie est réalisée au sein du centre recruteur hormis pour la neurochirurgie (Nancy et Strasbourg) et l'orthopédie (Besançon, Nancy, Strasbourg). Les allogreffes sont effectuées à Besançon, Nancy et Strasbourg. Un bilan faisant état du fonctionnement de cette organisation doit être adressé à l'INCa annuellement. L'organisme gestionnaire de cette filière interrégionale de soin est le Groupement de Coopération Sanitaire Grand-Est.



Are the methylation of MGMT (O6-methylguanine-DNA methyltransferase) and the DNA mismatch repair (MMR) mechanism frequently involved in pediatric cancers ?

Auteurs: Aurélie NGUYEN^{1,4}, Michèle LEGRAIN², Agnès NEUVILLE³, Erwan PENCREACH⁴, Eric GUERIN⁴, Patrick LUTZ¹, Marie Pierre GAUB², Dominique GUENOT⁴, Natacha ENTZ-WERLE^{1,4}

¹ CHU Strasbourg, Pédiatrie 3 - Unité d'Oncologie et Hématologie pédiatrique; ² CHU Strasbourg, Laboratoire de biologie moléculaire; ³ CHU Strasbourg, Unité d'Anatomie-Pathologie, ⁴ Université de Strasbourg, EA 4438

E-mail: aurelia.nguyen@chru-strasbourg.fr

In pediatric oncology more and more protocols are including now temozolomide (TMZ) as a drug in the first line treatment or at relapse time. MGMT activity is known to circumvent the toxicity of alkylating agents such as TMZ. The defect of MMR mechanism is also one of the cellular way for cancers to resist to TMZ. Only few studies have been already done in the pediatric field around these markers of TMZ resistance. Based on the new therapeutic indications of this drug in pediatric cancers, we performed a study in 100 malignant tumors including: sarcomas, neuroblastomas (NB), high grade brain tumors and acute lymphoblastic leukemia (ALL) to evaluate the MGMT methylation and the MMR mechanism.

Material and methods: 12 high grade gliomas (HGG), 13 medulloblastomas (MB), 15 osteosarcomas (OS), 15 Ewing sarcomas (EWS), 15 rhabdomyosarcomas (RMS), 15 NBs and 15 ALLs were included retrospectively in the study. DNA was extracted from tumors at diagnosis. In all tumors, the methylated status of MGMT was analyzed by methylation specific PCR. Its expression was studied by immunohistochemistry. An allelotyping method was performed in these tumors, using the NIH reference microsatellites, to analyze the MMR status in each

tumor.

Results: 3 out of these 100 tumors (2 HGGs and 1 MB) were presenting a MSI (microsatellite instability), witness of a MMR deficiency. Only 5 tumors had a methylated MGMT: 2 EWSs, 2 HGGs and 1 MB. One of the HGG was presenting at the same time both abnormalities. For the tumors treated with TMZ (12 HGGs, 4 MBs, 2 EWSs and 4 NBs), there were no differences on survival between the unmethylated and methylated tumors.

Discussion: The methylation of MGMT and the MMR deficiency seem not to be the major mechanisms involved in the sensitivity to TMZ. These results suggest also that additional mechanisms of TMZ sensitivity and resistance are probably operational.



A multiplex SNaPshot assay as a rapid method for simultaneous *K-ras* and *B-raf* mutations detection in advanced colorectal cancer

Auteurs: Sandrine MAGNIN, Erika VIEL, Alice BARAQUIN, Bernadette KANTELIP, Jean-Luc PRETET, Christiane MOUGIN, Marthe BIGAND, Benoît GIRARDO, Christophe BORG, Christophe FERRAND

CHU Jean-Minjoz, Plateforme de génétique moléculaire des cancers, Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Besançon

E-mail : smagnin@chu-besancon.fr

Résumé : *K-ras* mutations testing became necessary prior prescription of Epidermal Growth Factor Receptor antagonist targeting therapies for patients with metastatic colorectal cancers. *K-ras* mutations have been associated with shorter progression-free in patients treated with cetuximab and panitumumab. Activating mutation of *B-raf* might also play a role in treatment decision making and prognosis definition. The wide introduction of these targeted therapies has created a need for the development of cost-effective methods for routine *K-ras* and *B-raf* testing. Here we compare a multiplex SNaPshot assay able to simultaneously and properly identify *K-ras* codons 12, 13 and *B-raf* codon 600 mutations with direct DNA sequencing and with a recent method based on High Resolution Melting analysis. These methodologies were tested from 110 routinely used formalin-fixed and paraffin-embedded tissue blocks. *K-ras* mutations were detected by SNaPshot in 34.5% of cases and *B-raf* codon 600 mutation was present in 10%. *K-ras* results were confirmed by direct DNA sequencing. As High Resolution Melting analysis represent a more sensitive approach than sequencing to screen for *B-raf* mutations in clinical samples, this technology was compared with our newly design SNaPshot assay. Both methods showed similar results, indicating the high sensitivity of SNaPshot. Costs and times of all detection techniques used here were also compared. In conclusion, our new designed SNaPshot assay offers a fast, cheap, sensitive and sufficiently robust approach for diagnostic practice and patient's selection.



Chimiothérapie néo-adjuvante pour cancer du sein opérable (RH+ et TN -) : une étude randomisée comparant un bras standard à un bras adapté à la réponse tumorale

Auteurs: Hervé CURE¹, Eva BRABENCOVA¹, Ghislaine NIEZGODZKI², Sandrine MEUNIER¹, Didier TOUCHE¹, Eric FONDRIINER¹, Marie-Ange MOURET-REYNIER², Frédérique PENAULT-LLORCA², Philippe CHOLLET²

¹ Institut Jean-Godiot, Reims; ² Centre Jean-Perrin,

Clermont Ferrand

E-mail : herve.cure@reims.fnclcc.fr

Objectif : Afin de démontrer une amélioration du taux de réponse complète pathologique en modulant la chimiothérapie néo-adjuvante (CTNA) à la réponse tumorale dans les cancers du sein opérables Her 2 négatif de stades II-III A, une étude randomisée prospective multicentrique de phase II (protocole AU 651) de 264 patientes a été initiée (AU 651) comparant le schéma standard (bras A) de 3 FEC 100 suivis de 3 Taxotère® au schéma adaptant la polychimiothérapie selon la réponse échographique après deux cycles (\geq ou $<$ à 30 %) ou après quatre cycles (\geq ou $<$ à 50 %), le Taxotère® remplaçant le FEC 100 en cas de réponse insuffisante. Dans tous les cas, la chirurgie est réalisée après 6 cycles de CTNA.

Patientes et méthodes : Afin d'appréhender au mieux l'objectif principal de l'étude, une relecture anatomopathologique a été conduite pour analyser le résidu tumoral mammaire et ganglionnaire en fonction de trois classifications standardisées (Chevallier, Satoloff, RDBN) auxquelles a été ajoutée pour l'étude une nouvelle classification, la LRDBN (Limited Residual Disease in Breast and Nodes).

Résultats : Soixante deux patientes, d'âge médian de 50 ans, ont terminé leur CTNA et 59 pièces opératoires ont pu être revues : 45 de phénotype luminal (Her 2 - RH +) et 14 triple négatifs (Her 2 - RH -). Le bras B (CTNA modulée à la réponse tumorale) fournit des pRC plus importantes dans toutes les classifications mais d'une façon statistiquement non significative. Dans le sous-groupe des TN, 10/14 réponses ont été observées (RO = 71 %) avec un taux de pRC de 43 à 58 % selon les 4 classifications pathologiques utilisées.

Conclusion : La CTNA du cancer du sein opérable pourrait être optimisée en ajustant les médicaments au suivi échographique de la réponse tumorale. Les TN répondent en moyenne une fois sur deux d'une façon complète à la CTNA dans cette étude AU 651 qui continue son recrutement. Des résultats actualisés seront fournis pour le 4ème Forum du CGE.

Posters et communications non affichées

Thème

Epidémiologie et Santé Publique

N° 1

Intérêt du score de propension dans l'évaluation d'une séquence thérapeutique - Exemple de l'étude du traitement néo-adjuvant du cancer du sein à partir du registre de Côte d'Or

Auteurs : Isabelle FERRIÈRES, Sandrine DABAKUYO, Philippe MAINGON, Gilles CREHANGES, Marc BARDOU, Pierre FUMOLEAU, Bruno COUDERT, Sylvain CAUSERET, Patrick ARVEUX, Franck BONNETAIN

Centre Georges François Leclerc, Dijon

E-mail : itdim01@cgfl.fr

Contexte : Les études de phase III réalisées à ce jour n'ont pas montré de bénéfice à long terme de la chimiothérapie néoadjuvante du cancer du sein sur la survie globale. Les études de cohorte doivent être menées pour confirmer l'intérêt clinique de ce schéma.

Objectif : Comparer l'efficacité du score de propension à celle de l'appariement classique en terme de puissance pour l'analyse de la survie globale après chimiothérapie néo-adjuvante Vs adjuvante chez les patientes atteintes d'un cancer du sein opérable.

Méthodes : Nous utilisons le registre des cancers du sein de Côte d'Or. Les patientes présentant un cancer métastatique, bilatéral ou non invasif ont été exclues, ainsi que les hommes et les femmes enceintes. Nous avons considéré les variables suivantes, évaluées en pré-opératoire : âge, année de diagnostic, stade tumoral T et N, grade histologique SBR, récepteurs hormonaux, parité, indice de masse corporelle.

Résultats : Les variables associées en univarié au choix du traitement sont les stades T et N, le grade SBR et la présence de récepteurs à la progestérone. Le modèle final du score de propension, calculé par régression logistique multivariée, retenu selon les critères de Hosmer et Lemeshow et l'AIC, comprend : âge, année du diagnostic, stades T et N. Nous disposons de ces données pour 1452 patientes non exposées et 220 patientes exposées. Leur suivi médian est de 11,1 ans. La courbe ROC correspondante présente une aire sous la courbe de 0,89.

Conclusion : Nous appairerons les patientes exposées et non exposées par la méthode classique sur les stades T et N, l'âge et la période de diagnostic. Nous appairerons ensuite sur le score de propension en utilisant la distance de Mahalanobis, puis nous l'utiliserons comme variable d'ajustement ou de stratification. L'efficacité de ces méthodes sera évaluée sur le nombre de sujets appariés, l'équilibre des covariables et la puissance.

N° 2

Place des personnes atteintes de cancer et de la cancérologie dans la vie professionnelle actuelle des médecins généralistes

Auteurs : Tan Dat NGUYEN, Fanny LAMBERTH, Virginie ROBLES

Institut Jean Godinot, Reims

E-mail : tandat.nguyen@reims.fnclcc.fr

Contexte : préciser la place du patient cancéreux et de la cancérologie dans la vie professionnelle actuelle d'un

médecin généraliste (MG). Recueillir son avis sur les relations avec les spécialistes et la formation post-universitaire souhaitable.

Méthode : élaboration et envoi d'un questionnaire. 2500 questionnaires adressés aux médecins généralistes dans les départements de la Marne, Aisne, Haute Marne, Aube et Ardennes entre février et mai 2010. Retour de plus de 700 questionnaires entièrement remplis par les MG.

Résultats : les principaux éléments seront présentés en détails sur le poster sous forme de diagrammes. Les points forts des réponses concernent la prévention et le dépistage, la surveillance à domicile, la fin de vie, les relations avec les cancérologues, les études épidémiologiques et les formations proposées en cancérologie. Plus de 200 commentaires libres ont été colligés et apportent un éclairage particulièrement humaniste aux réponses des MG.

N° 3

Réinsertion à long terme après un cancer du sein en France : étude comparative à partir de trois registres des cancers

Auteurs : Delphine KLEIN¹, Mariette MERCIER^{2,4}, Edwige LEMOISSON³, Marc PUYRAVEAU⁴, Arlette DANZON⁵, Véronique DALSTEIN², Astrid POZET⁴, Anne-Valérie GUIZARD³, Michel HENRY-AMAR³, Michel VELTEN^{1,6}

¹ Laboratoire d'Epidémiologie et de Santé Publique, Registre des cancers du Bas-Rhin, EA 3430, Université de Strasbourg, Strasbourg; ² Laboratoire de Biostatistiques, UPRES EA 3181, Université de Franche-Comté, Besançon; ³ Registre Général des Tumeurs du Calvados, UPRES EA 1772, Centre François Baclesse, Caen; ⁴ Unité de recherche clinique, CHU, Besançon; ⁵ Registre des cancers du Doubs, Besançon; ⁶ Centre Paul Strauss, Strasbourg

E-mail : delphine.klein@unistra.fr

Contexte : En France, le cancer du sein est à l'origine d'un tiers des décès par cancer. Compte tenu du nombre croissant de femmes guéries de ce cancer et de la rareté des études sur l'impact de cette maladie sur la réinsertion à long terme, nous avons réalisé une étude en population générale à partir de trois registres français des cancers.

L'objectif était d'étudier la réinsertion 5, 10 et 15 ans après le diagnostic de patientes considérées guéries d'un cancer du sein (cas) par comparaison à des témoins.

Méthodes : Les cas ont été tirés au sort à partir de trois registres des cancers (Bas-Rhin, Calvados et Doubs). Trois périodes de diagnostic ont été étudiées : 1990, 1995 et 2000. Les témoins ont été tirés au sort sur les listes électorales, avec stratification sur l'âge et l'habitat. Les sujets ont complété un questionnaire de conditions de vie permettant d'étudier les changements survenus 5, 10 ou 15 ans après le diagnostic. Une analyse par régression logistique a permis de comparer les conditions de vie entre les cas et les témoins.

Résultats : 652 cas et 1188 témoins ont participé à l'étude. Des disparités entre les départements ont été observées pour différents domaines. Pour la vie de couple, il n'y avait pas de différence significative entre les cas et les témoins quant à la fréquence de changement de la situation maritale. Une amélioration

de la qualité de la relation a été observée chez les cas. Pour l'activité professionnelle, les cas avaient plus d'ambition professionnelle que les témoins. D'autre part, les cas rencontraient davantage de difficultés lors d'une demande de prêt financier que les témoins. Enfin, une demande d'aide psychologique a été plus fréquemment formulée par les cas.

Discussion : Les conditions de vie des patientes en rémission d'un cancer du sein sont, en général, différentes de celles des témoins de population. Ces résultats attirent l'attention sur la nécessité de renforcer la prise en charge sociale de ces malades.

N° 4

Incertitude médicale et responsabilité thérapeutique, rôle et identité du binôme patient-médecin

Auteurs : [Hélène CLÉAU](#), Marie-Hélène BARON-MAILLOT

Université SLHS de Franche-Comté, CHU, Besançon

E-mail : cleauhelene@yahoo.fr

Résumé : A partir du cancer de la prostate localisé à haut risque biologique et des propositions thérapeutiques qui peuvent être faites, nous analysons la relation patient-médecin d'un point de vue sociologique. Les traitements les plus courants sont la radiothérapie externe et la chirurgie ; or, aucun standard thérapeutique n'est scientifiquement validé. *A priori*, toutes les options sont discutables et contraintes par le double enjeu de garantir une espérance de vie optimale, tout en préservant les qualités de vie sexuelle et urinaire.

L'incertitude en cancérologie s'incarne parfaitement dans ce contexte. Or, l'apparition dans les années 80 de *Evidence-Based Medicine*, a justement pour but d'éliminer la subjectivité des propositions thérapeutiques. Notre objet d'étude est le fruit d'une collaboration avec des médecins qui proposent une étude clinique de phase III randomisée, qui questionne les notions de qualité et quantité de vie. Le cadre de cette recherche, effectuée à partir d'observations et de récits de vie, est un angle d'attaque fécond pour questionner la place de chacun des deux acteurs, notamment en ce qui concerne les décisions thérapeutiques. Si une collaboration entre les deux acteurs représente aujourd'hui la forme la plus aboutie de cette relation, nous verrons qu'elle ne va pas de soi, ce qui tient d'une part au contexte spécifique du cancer de la prostate où l'information délivrée par le médecin est décisive ; et d'autre part, au poids des représentations du corps héritées, qui sont négociées dans l'interaction. A cela, il convient d'ajouter l'impact de l'institution de soin, sur ce lien social si particulier. L'analyse révèle une relation sociale complexe et mouvante. L'enquête qualitative montre que derrière la consultation se profile l'intégration d'un processus de soin qui passe d'abord par la demande d'une expertise médicale. Se trouve ainsi rappelée la double réalité de la maladie, organique et sociale, et la base même de la relation : le soin.

Communication

Place des personnes atteintes de cancer et de la cancérologie dans la vie professionnelle actuelle des internes en médecine générale

Auteurs : [Fanny LAMBERTH](#), Tan Dat NGUYEN, Virginie ROBLES

Institut Jean Godinot, Reims

E-mail : tandat.nguyen@reims.fncc.fr

Contexte : Préciser la place du patient cancéreux et de la cancérologie dans la formation professionnelle actuelle d'un interne en médecine générale (IMG).

Recueillir son avis sur les relations avec les spécialistes et la formation universitaire souhaitable.

Méthode : Elaboration d'un questionnaire remis lors de la journée de choix des stages des IMG de Champagne-Ardenne. Sur 118 IMG inscrits, 65 ont rempli le questionnaire.

Résultats : La majorité des IMG considèrent que les cancers tiennent une place importante dans leur vie professionnelle, que les problèmes posés sont complexes et essentiellement d'ordre psychologique (notamment l'annonce d'une rechute après une phase de rémission). Pour les IMG, l'information des patients sur le diagnostic et le pronostic se doit d'être très claire et complète. La plupart des IMG considèrent que le pronostic des patients, l'abord psychologique et la formation en cancérologie se sont significativement améliorés au cours des dernières années.

Communication

Incidence of solitary pulmonary nodules in France: results of a population-based study in five north-eastern regions in 2003

Auteurs : [Émilie MARRER](#)¹, Damien JOLLY^{2,3}, Patrick ARVEUX⁴, Catherine LEJEUNE⁵, Marie-Christine WORONOFF-LEMSI⁶, Jérémie JEGU^{1,7}, Francis GUILLEMIN^{8,9}, Michel VELTEN^{1,7,10}

¹Dpt of Epidemiology and Public Health, EA 3430, Strasbourg University, Strasbourg; ²Clinical Research Coordination, University Hospital, Reims; ³Reims Champagne Ardenne University, EA 3797, Reims; ⁴Medical Information Dpt, Centre Georges-François Leclerc, Dijon; ⁵Institut national de la santé et de la recherche médicale, Unité 866, Faculty of Medicine, Dijon University, Dijon; ⁶Medico-economic Evaluation Unit, Pharmacy Service, University Hospital, Besançon; ⁷Dpt of Public Health, University Hospital, Strasbourg; ⁸Nancy-University, EA 4360 Apemac, Nancy; ⁹Institut national de la santé et de la recherche médicale, Centre d'Investigation Cliniques-Epidémiologie Clinique, University Hospital, Nancy; ¹⁰ Dpt of Epidemiology and Biostatistics, Centre Paul Strauss, Strasbourg

E-mail : emilie.marrer@laposte.net

Background : A solitary pulmonary nodule (SPN) is a lesion often discovered on chest radiography or computed tomography (CT) during routine clinical practice but its management is a clinical challenge. Furthermore, epidemiological data about SPN are scarce. Therefore, the aim of this study was to provide estimations of the incidence rate of SPN in a French population.

Methods : This population-based study was undertaken in an area of five northeastern regions of France (Alsace, Bourgogne, Champagne-Ardenne, Franche-Comté and Lorraine) representing about 13% of the French population. In two observation periods, the first from May to December 2002 and the second from May 2004 to June 2005, all chest CT reports were analyzed from all radiological centers performing CT imaging over the whole study area. SPN cases were defined as patients older than 18 years old without a previous history of cancer and showing a solitary pulmonary nodule of size comprised between one and three centimeters on chest CT report.

Results : Among 11,705 and 19,085 analyzed chest CT reports respectively during each period, 154 and 294 SPN were identified. Crude interregional incidence rates were 26.9 and 31.3 per 100,000 person-years respectively in each period in men and 9.6 and 15.6 in women.

Interregional world age-adjusted rates (WAAR) were 16.4 and 19.8 per 100,000 person-years in men, much

higher than in women with 4.9 and 8.9 cases per 100,000 person-years. In the first period in men, regional WAAR ranged from 6.0 to 27.9 per 100,000 person-years. In women, regional WAAR ranged from 3.6 to 6.3 per 100,000 person-years. In the second period, regional incidence rates variation range was similar in men but larger in women.

Discussion: Incidence variation between regions will be explored. As SPN may be the first sign of lung cancer and in view of the limited data available in a general population, these results are of importance for clinicians involved in the diagnosis and management of these patients.

Thème

Cibles thérapeutiques et nouvelles molécules

N° 5

Développement d'un test de diagnostic compagnon pour la personnalisation du traitement par chimiothérapie des cancers de la vessie et de la prostate

Auteurs : [Bénédictte PONS](#)¹, Jacques LHERMITE², Christian D. MULLER¹

1 Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, CNRS, Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg, Strasbourg; 2 SELARL Prof. Lhermite & Associés, Chaumont

E-mail : bpons@unistra.fr

Résumé :

Ce projet s'inscrit dans le cadre de l'effort actuel vers la personnalisation du traitement des cancers. Parmi les différentes stratégies affiliées à la médecine personnalisée, nous avons choisi de développer un test de théranostic (néologisme issu de thérapeutique et diagnostic) aussi appelé test de diagnostic compagnon, qui associe un test diagnostique à une thérapie afin de choisir le type de traitement ainsi que son dosage en fonction de la réaction de chaque individu.

Nous proposons de développer un test cellulaire d'aide au choix thérapeutique s'appuyant sur les derniers développements accomplis dans le domaine de la cytométrie capillaire.

Ce test consiste en un pré-screening rapide sur les cellules du patient des divers cocktails moléculaires envisagés pour son traitement. L'objectif est de déterminer avant l'administration quel type de chimiothérapie sera la plus bénéfique pour éradiquer les cellules cancéreuses sans entraîner trop de «dommages collatéraux».

Nous avons démontré la preuve du concept en réalisant le criblage d'une petite banque de molécules utilisées en chimiothérapie sur des modèles cellulaires de cancers de la vessie et de la prostate. L'étape suivante consiste à réaliser les mêmes tests sur des cellules issues d'explants de patients avec les cocktails moléculaires envisagés pour leur traitement. Les résultats issus du test pourront aider le praticien à choisir le traitement le plus efficace en terme de nature des composés et de dose à administrer au patient pour éliminer sélectivement les cellules cancéreuses.

Une application possible à plus long terme serait d'utiliser notre test pour accélérer la validation de nouveaux candidats médicaments ou pour aider à élargir le champ d'application de traitements déjà existants à d'autres types de cancers.

N° 6

Novel Cdc25 small coumarin-based inhibitors: biological evaluation

Auteurs : [Emilie BANA](#), Sergio VALENTE, Elodie VIRY, Gilbert KIRSCH, Denyse BAGREL

Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Biochimie Pharmacologique, Université Paul Verlaine, Metz

E-mail : bana@univ-metz.fr

Résumé : Cell division cycle 25 (Cdc25) phosphatases (A, B, and C) are key cell cycle control proteins in eukaryotic cells and numerous studies rise up the correlation between their overexpression and cancer aggressiveness, high grade tumors and low vital prognosis. Cdc25s are attractive candidates for new cancer therapy targets as their inhibition could be able to slow down tumor growth. To date, about one hundred chemical compounds have been reported in literature as inhibitors of Cdc25s. Most are quinonoid, phosphate surrogates or electrophilic inhibitors. Several silybin derivatives showed a cell cycle arrest and induced level variations of the three Cdc25s in PC3 cells, and several flavones are able to inhibit CDC-25.1 phosphatase activity in *C. elegans*. These findings prompted us to project the design, synthesis and biological validation of novel coumarin-based (like flavon isomer) derivatives. Our study started with insertion of 4-methoxy(hydroxy)phenyl and styryl groups in C3 position of the coumarin nucleus. We then explored the C4 position with the chalcone-coumarin(benzoylvinyl) derivatives and the reverse chalcone-coumarin (cinnamoyl). At last we investigated the insertion of a sulfur atom in the spacer-chain between coumarin and benzoyl moiety, obtaining final thio-analogs.

The Cdc25 inhibitory potential of 16 new compounds was tested using the three human (glutathion-S-transferase)-Cdc25s recombinant enzymes. This screening highlighted two chalcon-coumarin derivatives, namely 6a and 6d, which showed an IC50 value in the level of 25 µM against Cdc25A and C. 6a behaves as an irreversible inhibitor of Cdc25A. Using breast cancer cell lines (MCF7 and derivatives), the study of a potential correlation between *in vitro* and *in cellulo* Cdc25 inhibitions as well as cytostatic effect and cell cycle blocking is going on.

We consider 6a and 6d as two new lead compounds worthy of note for models in developing new Cdc25 inhibitors, and thus new potential anticancer drugs.

N° 7

L'hypéricophénoside, une nouvelle molécule dans le domaine de la chimioprotection

Auteurs : [T. TZANOVA](#), P. NEDIALKOV, V. HADJIMITOVA, M. KARAIVANOVA, D. BAGREL

LIMBP, Université de Metz

E-mail : tzanova@univ-metz.fr, bagrel@univ-metz.fr

Résumé : L'amélioration des thérapies anti-cancéreuses existantes à l'aide de nouveaux antioxydants ainsi qu'une meilleure connaissance des mécanismes de fonctionnement de ces molécules avec les espèces réactives de l'oxygène (ERO) constituent une voie de recherche intéressante. Plusieurs benzophénones d'origine naturelle isolées de *Hypericum annulatum*, Guttiferae, ont été étudiées dans ce travail. Après avoir étudié leur pouvoir antioxydant, nous avons déterminé leurs potentiels protecteurs sur des systèmes cellulaires agressés par différentes molécules thérapeutiques. Les propriétés intéressantes de la benzophénone - hypéricophénoside (Hd19) comme le fort pouvoir réducteur déterminé à l'aide de la méthode FRAP

(Ferric Reducing Antioxidant Power) et le potentiel antiradicalaire évalué par la méthode très sensible de chimioluminescence nous ont donc conduits à sélectionner la Hd19 pour une étude de ses éventuels effets protecteurs. L'hypericophénoside a été étudié sur deux types de cellules : des cellules cancéreuses (lignée MCF7 développée à partir d'un adénocarcinome mammaire humain), et des cellules non cancéreuses (lignée hTERT-HME1, développée à partir de cellules épithéliales mammaires humaines immortalisées par la télomérase, mais également la lignée de cardiomyoblastes H9c2 et la culture primaire de cellules tubulaires rénales). Ces travaux ont montré que la Hd19 n'altère pas le pouvoir cytotoxique du cisplatine et de l'adriamycine dans les cellules cancéreuses, tout en limitant la mort des cellules mammaires non cancéreuses et des cellules tubulaires rénales. Bien que les résultats obtenus sur les cardiomyoblastes soient décevants, ces premières données ouvrent des perspectives intéressantes pour l'utilisation de cette molécule.

N° 8

The cholesterol binding protein STARD3 is a novel regulator of epidermal growth factor receptor trafficking

Auteurs : François LEGUEUX, Fabien ALPY, Marie-Christine RIO and Catherine TOMASETTO
IGBMC, Strasbourg

E-mail : falpy@igbmc.fr

Résumé : STARD3, also known as MLN64, is a cholesterol-binding membrane protein composed of two conserved regions. The N-terminal moiety called the MENTAL (MLN64-N TerminAL) domain that spans late endosome (LE) membrane promotes oligomerization and membrane cholesterol accumulation. The C-terminal half that projects into the cytoplasm is a cholesterol-specific START (StAR related lipid Transfer) domain. Using inducible HeLa cell models and flow cytometry to measure STARD3, and EGF-EGFR pathway, we show that EGF-mediated EGFR signaling, degradation and trafficking are severely altered in STARD3 overexpressing cells. Indeed in these cells ligand-induced EGFR degradation is compromised. Rescue experiments with dominant active rab5 and rab7 proteins did not modify this phenotype suggesting that STARD3 acts independently from these rab proteins. Interestingly, by measuring total and cell-surface EGFR, we found that STARD3 expression depletes specifically part of the cell-surface receptor. In consequence EGF mediated signaling is decreased, compared to control cells. Moreover, co-localization experiments, showed that in STARD3 overexpressing cells, part of EGFR is found in endocytic vesicles in the absence of ligand. Nevertheless, the pool of membrane-associated EGFR is able to recycle back to cell surface normally. Mechanistic studies suggest a direct role of STARD3 on EGFR most probably at the level of early to late endosome traffic. Together, these data indicate that STARD3 acts as a novel regulator of EGFR function.

N° 9

The exon junction complex defines a novel nuclear domain: the PERISPECKLES

Auteur : Elisabeth DAGUENET

IGBMC, Strasbourg

E-mail : daguenet@igbmc.fr

Résumé : The MLN51 gene (also called Casc3 or Barentsz), overexpressed in around 30% of breast carcinoma, encodes a nucleocytoplasmic protein

involved in mRNA metabolism. To better appreciate how the overexpression of MLN51 contributes to cancer formation and/or progression, we are defining the physiological function of MLN51.

In eukaryotes, mRNA-binding proteins have major effects on mRNA metabolism by regulating their translation, degradation and subcellular localization. The multiprotein complex EJC (Exon Junction Complex) that is deposited onto mRNA is a critical effector of mRNA function. The EJC is loaded at the exon junction by the spliceosome and remains stably associated with mRNA after its cytoplasmic export. Structural studies showed that the core complex is formed by four proteins (eIF4AIII, MLN51, Magoh, Y14). Previous studies have shown that the EJC stimulates mRNAs translation, controls mRNA integrity and participates to motorized transport of specific mRNAs. If the central role of EJC on mRNA metabolism is clearly demonstrated, the mechanisms of the dynamic assembly and evolution of EJC remain elusive. In this study, we showed that the core and most of the peripheral EJC factors are colocalized in discrete regions of the nucleus located at the periphery of nuclear speckles. This region appears to be a novel nuclear domain that we call "the perispeckle". By *in vitro* interaction analysis and *in vivo* experiment using FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) approaches, we showed that the core factors interact together at this region. Moreover, at the ultrastructural level using CLEM (Correlative Light Electronic Microscopy), we observed that the perispeckle domain is associated with perichromatin fibers. Collectively, these data suggest that the EJC complex dynamically assembles and associates with spliced mRNAs at the perispeckles, suggesting a functional implication of this nuclear domain on gene expression.

N° 10

Structural basis of the activation of the human Vitamin D receptor by the natural metabolite 1 α ,25-dihydroxy-3-epi-vitamin D3

Auteurs : Ferdinand MOLNÁR^{1,2}, Rita SIGÜEIRO³, Yoshiteru SATO¹, Clarisse ARAUJO³, Inge SCHUSTER⁴, Pierre ANTONY¹, Jean PELUSO⁵, Christian MULLER⁵, Antonio MOURIÑO³, Dino MORAS¹, Natacha ROCHEL^{1,*}

¹ CEBGS-IGBMC, Département de Biologie et de Génomique Structurales, CNRS-Inserm, Université de Strasbourg, Strasbourg; ² Department of Pharmaceutics, University of Kuopio, Kuopio, Finland; ³ Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Química Orgánica and Unidad Asociada al CSIC, Spain; ⁴ Institute of Pharmaceutical Chemistry, University Vienna, Vienna, Austria; ⁵ Faculty of Pharmacy, Institut Gilbert Laustriat, UMR 7175 CNRS, University of Strasbourg, Strasbourg

E-mail : antony@igbmc.fr

Summary: The ligand dependent transcription regulator Vitamin D nuclear Receptor (VDR) is an exquisite therapeutic target against human metabolic diseases and uncontrolled cell proliferation in specific tissues. Indeed, activated VDR-induced genomic action induces growth inhibition of lymphomas, breast primary tumor cells, renal osteodystrophy, osteoporosis, psoriasis or autoimmune diseases [1-3]. The 1 α ,25(OH)₂-3-epi-D₃, a metabolite of the natural ligand 1 α ,25(OH)₂-D₃, exerts its biological activity through binding to its cognate VDR. *In vivo* action of 1 α ,25(OH)₂-3-epi-D₃, is tissue-specific and exhibits lowest calcemic effect compared to 1 α ,25(OH)₂-D₃. In order to gain insight into the structure-activity relationships of 1 α ,25(OH)₂-3-epi-D₃, we synthesized the 3 epimer, determined some of its *in vitro* biological properties and solved the crystal structure of its

complex with human VDR Ligand Binding Domain (LBD).

Results: VDR induced transcriptional activity in human breast cancer MCF-7 cells transfected with *CYP24* promoter containing VDRE fused to reporter luciferase gene is slightly less potent than the natural ligand (EC50: 5.9 nM vs 2.9 nM).

Both metabolites display equivalent anti-proliferative effects in keratinocytes.

In the crystal structure of the VDR LBD in complex with $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-}3\text{-epi-D}_3$, the 3-epimer maintains the number of hydrogen bonds by compensating the loss of an hydrogen with Ser278 by a water mediated hydrogen bond.

Discussion: We synthesized the $1,25(\text{OH})_2\text{-}3\text{-epi-D}_3$ which exhibits similar properties compared to $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Its high metabolic stability makes this compound a potential ligand for therapeutics treatments. Additional study on its targets specificity and selectivity is required for designing novel analogues.

References:

- Adorini, L. and Penna, G. (2008) *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 4, 404-412
Bouillon, R., et al.. (2006) *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 102, 156-162
Pinette, K. V., et al. (2003) *Mini Rev. Med. Chem.* 3, 193-204

N° 11

Calcium Signal Biomarkers within Glioblastoma Stem Cells

Auteurs : Emilie AUDRAN¹, Pascal VILLA², Marie-Claude KILHOFFER¹ and Jacques HAIECH¹

¹ Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, UMR 7200, Faculté de Pharmacie, Strasbourg; ² UMS 3286, ESBS, Strasbourg

E-mail : emilie.audran@etu.unistra.fr

Résumé : Glioblastomas are highly aggressive brain tumors without available curative treatment. A small subset of these cancer cells with stem cell properties are proposed to be responsible of tumor growth and resistance to traditional therapies. These cells, known as glioblastoma cancer stem cells (gCSCs), are able to self-renew and differentiate thus recapitulating the phenotype of the tumor. Understanding the physiopathology of these cells is fundamental to unveil new therapeutic targets for efficient tumor treatment.

As calcium (Ca^{2+}) signaling, which plays a major role in differentiation, apoptosis and proliferation events, is modified in cancer cells, we propose to compare Ca^{2+} signals between one gCSC line and two other cell lines.

This work is based on the fact that Ca^{2+} signaling versatility emerges from an extensive repertoire of components, the Ca^{2+} signalosome which is specific of a given cell in a given physiological state. Among the proteins that translate the Ca^{2+} signal into cellular events, the Ca^{2+} hub Calmodulin (CaM) exerts a major role both in Ca^{2+} homeostasis and in intracellular signaling. We have previously shown that disturbing CaM with small molecules induces a Ca^{2+} homeostasis modification, depending on the cell Ca^{2+} signalosome. In this frame, we have used several CaM antagonists from homologous chemical classes of molecules to differentially disturb CaM interactions with its downstream targets and compare the induced cytoplasmic Ca^{2+} modifications between gCSCs and the two other cell types.

Using this approach, we have shown that Ca^{2+} signaling is modified in the cancer inducing cell line (gCSCs) and that gCSCs exhibit a reduced sensitivity

to extracellular Ca^{2+} and secondly that they behave closer to epithelial than neural cells regarding Ca^{2+} signaling, despite their ectodermic origin. To complete this study, we aim at further deciphering the molecular mechanisms of these CaM-antagonists induced Ca^{2+} signals.

N° 12

GPCR expression in glioblastoma cancer stem cells

Auteurs : Marie FEVE¹, Maria ZENIOU¹, Hervé CHNEIWEISS², Jacques HAIECH¹, Marie-Claude KILHOFFER¹

¹ UMR 7200 Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, Equipe Chimie et Biologie Intégrative, Strasbourg; ² UMR 894 Inserm, Laboratoire de plasticité gliale, Hôpital Ste-Anne, Paris

E-mail : mfeve@unistra.fr

Résumé : Cancer stem cells (CSC) correspond to cancer cells with stem cells properties, able to differentiate into several cell types and to regenerate the initial tumor when xenografted. These cells, initially described in blood cell tumors appear to be present in great variety of tumors and are considered as the cells responsible for tumor development, dissemination and resistance to chemotherapies. Understanding the physiopathology of these cells appears primordial for the development of more efficient cancer therapies.

Our work focuses on CSC isolated from glioblastomas, a very aggressive form of brain tumors, known for their resistance to classical chemotherapies and radiotherapies. CSC were isolated from glioblastomas of different patients. We made the hypothesis that the biased functioning of these cells which implies alterations in the network of cell signaling pathways, may involve alterations in various membrane receptors and namely among the members of the G-protein coupled receptors (GPCR). These seven helix transmembrane receptors have been shown to be of prime importance in normal cell signaling and several members play an important role in the control of cell proliferation. To gain insight into the functioning and firing of CSC we analyzed the expression of the repertoire of GPCR in glioblastoma CSC in comparison to normal neural stem cells and astrocytes. Observed changes will be presented and discussed in the context of GPCR as potential CSC biomarkers and therapeutic targets.

N° 13

Synthèse et évaluation biologiques de molécules hybrides capables de sensibiliser les cellules cancéreuses aux radiations ionisantes

Auteurs : Hélène BURCKEL, Pierre BISCHOFF, Alain WAGNER, Georges NOËL

LFCS, Faculté de Pharmacie, Strasbourg; EA-3430, Centre Paul Strauss, Strasbourg

E-mail : burckel@bioorga.u-strasbg.fr

Résumé : La résistance des cellules tumorales aux radiations ionisantes est à l'origine de nombreux échecs en radiothérapie. Une possibilité de contourner cette radiorésistance est d'associer à la radiothérapie des agents couramment utilisés en chimiothérapie. Une autre stratégie consiste à accroître la radiosensibilité tumorale par des composés ciblant de façon spécifique des effecteurs moléculaires intervenant dans la signalisation de l'apoptose ou dans les réparations de l'ADN. C'est le cas des inhibiteurs de la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) qui est une enzyme nucléaire qui catalyse la synthèse de polymères d'ADP-ribose dans les sites endommagés par l'ADN, facilitant

ainsi l'accès aux enzymes de réparation. L'utilisation de ces inhibiteurs en cancérologie fait actuellement l'objet d'un grand intérêt, car ils permettent un ciblage thérapeutique très précis de certains processus de réparation de l'ADN. D'autre part, les sels de platine composent une famille relativement restreinte, mais très efficace, d'agents anticancéreux. Leur cytotoxicité passe par la fixation covalente du platine aux bases de l'ADN, fixation susceptible de générer des coupures simple et double brins. L'objectif de notre projet est de synthétiser des molécules hybrides associant un complexe de platine et un inhibiteur de la PARP reliés par un bras espaceur. L'hypothèse sous-jacente étant que de tels composés pourraient à la fois créer des dommages à l'ADN, amplifier ceux causés par les radiations ionisantes et interférer avec la PARP. Ceci permettrait d'inhiber les processus de réparation et d'accroître ceux conduisant à la mort cellulaire, notamment l'apoptose et/ou l'autophagie. Plusieurs molécules hybrides ont été synthétisées et des tests biologiques d'inhibition de la PARP ont été réalisés. Ces molécules ont montré des activités inhibitrices intéressantes et l'évaluation de leur activité antitumorale sur des cellules cancéreuses en culture, avec et sans irradiation, est en cours.

N° 14

The Amyloid β Precursor Protein-Binding Protein 1 (APP-BP1) gene is involved in the radiosensitivity of the Human Papillomavirus (HPV)-positive SCC90 oropharyngeal cell line

Auteurs : Alain C. JUNG, Sébastien GUIHARD, Ludivine RAMOLU, Christine MACABRE, Georges NOËL, Joseph ABECASSIS

EA3430, Centre Paul Strauss, Strasbourg

E-mail : ajung@strasbourg.fnclcc.fr

Background: Human papillomavirus (HPV) positive-oropharyngeal cancers define a head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) distinct clinical sub-population of patients associated with an increased survival. We previously have shown that HPV-positive oropharyngeal lesions display a loss of genetic material in the 16q chromosomal region, and a decreased expression of the gene that encodes the Amyloid Beta Precursor Protein-Binding Protein 1 (APP-BP1), located in 16q22. APP-BP1 is required for the repression of p53 transcriptional activity by regulating its post-translation conjugation to NEDD8 (NEDDylation). Thus, we postulate that the deregulation of APP-BP1 in p53-positive HPV-related HNSCC could be involved in an increased radiosensitivity.

Material and methods: We used the SCC90 (oropharynx; HPV16-positive; wild type p53; radiosensitive) and SQ20B (larynx; HPV-negative; mutated p53; radioresistant) cell line models. APP-BP1 overexpression was achieved by cell transfection. The influence of APP-BP1 expression levels on cell sensitivity to ionizing radiations was assessed by measuring the clonogenic survival of cells after a 2 Gy irradiation. Cell death rates were evaluated by Propidium Iodide staining and FACS analysis.

Results: In order to validate our cell line model system, we used a qRT-PCR approach to assess the expression of the HPV16 E6/E7 mRNA, of CDKN2A p16 (used as a biomarker for an active HPV genome), WAF1/CIP1 p21 (a p53 target gene), and APP-BP1 in the SQ20B and SCC90 cell lines. Similarly to what is observed in human tumours, SCC90 show high HPV16 E6/E7 mRNA and CDKN2A p16 expression as compared to SQ20B cells. As a consequence of the presence of a wild-type p53, they express higher levels of WAF1/CIP1 p21. Interestingly, they display a diminished

expression of APP-BP1. SCC90 cells were transfected with an APP-BP1 expression vector and irradiated with X rays. We observed an increased radioresistance as compared to mock transfected cells. APP-BP1 overexpression is also correlated with the repression of the p53 transcriptional activity. Interestingly, SQ20B cells that are co-transfected with a wild type version of p53 and an anti-APP-BP1 siRNA display an increased radiosensitivity.

Conclusions: Altogether, our results suggest that modulation of APP-BP1 expression levels influence the radioresistance of cell lines via the inhibition of p53 transcriptional activity. Interestingly, the NEDDylation pathway has recently been proposed to be a potential target for cancer therapy.

N° 15

CD160 signaling mediates PI3K-dependent survival and growth signals in chronic lymphocytic leukemia

Auteurs : Jerome GIUSTINIANI^{1,2,3*}, Feng-Ting LIU^{1*}, Timothy FARREN^{1,4}, Li JIA⁵, Armand BENSUSSAN³, John G. GRIBBEN^{4,5}, Samir G. AGRAWAL^{1,4}

¹ Institut Jean Godinot; ² Blizzard Institute of Cell and Molecular Science, London; ³ Inserm U976 Saint Louis Hospital; ⁴ Dept of Haemato-Oncology; ⁵ Institute of Cancer, London;

Background : We have previously demonstrated the expression of the Natural Killer cell (NK) marker CD160 in B-CLL, which is not expressed by normal B cells. On a dataset of over 500 patients, CD160 is universally expressed by B-CLL cells (> 99% of cases) and is particularly useful in the diagnosis of difficult cases with atypical morphology and/or immunophenotype. CD160 is a GPI anchored cell surface molecule expressed by human and mouse circulating cytotoxic lymphocytes: CD56dim CD16+ NK cells, most TCR $\gamma\delta$ T-cells and cytotoxic effector TCR $\alpha\beta$ CD8+ T-cells (CTL). Functionally, triggering of CD160 leads to cytotoxicity and cytokine production by human NK cells and acts as a co-receptor for TCR induced proliferation. CD160 exhibits broad specificity for major histocompatibility complex (MHC) class Ia and Ib molecules. CD160 and HVEM (Herpes Virus Entry Mediator) were reported to be a new receptor:counter-receptor pair with the potential for bidirectional signaling.

Methods : Cells: MEC I B-cell line, derived from a patient with B-CLL (DSMZ Institut, Germany) and primary B-CLL cells. Anti-CD160 CL1-R2 and BY55 antibodies were produced locally. 3H incorporation or Ki67 expression were used for proliferation and cytokine bead array (BD) for TH1/TH2 cytokine detection. Cytochrome c release assay and Measurement of mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) were performed by flow cytometry. Caspase activity was measured using fluorescent substrate.

Results : Our Data recently published, show the potential for CLL cells to use the CD160 pathway to enhance their survival and cellular activation. We demonstrated that CD160-GPI stimulation induce secretion of IL-6 and IL-8, Akt phosphorylation and cell cycle progression with DNA synthesis. These new insights into the biology of B-CLL may represent opportunities to develop new therapeutic approaches in association with chemotherapies targeting DNA synthesis.

N° 16

Voies de signalisation de répression du gène MDR-1. Cible pharmacologique nouvelle pour la chimiothérapie?

Auteurs : E. GKIKOPOULOU, V. MARGUERITE, J.L. GUÉANT, M. MERTEN

Laboratoire de Nutrition, Génétique et Exposition aux Risques environnementaux, INSERM U954, Faculté de Médecine, Nancy

E-mail : gikopsonia@yahoo.fr

Contexte: La résistance aux agents anti-cancéreux souvent observée en chimiothérapie s'accompagne d'une augmentation de l'expression des gènes tels que *MDR-1*, gérée en partie par des réactions de méthylation cellulaire (grâce au métabolisme de la méthionine). Malheureusement la physiologie des réactions de méthylation régulant l'expression de *MDR-1* est très mal connue. La méthionine synthase est l'enzyme clé de cette voie métabolique et possède comme cofacteur la cobalamine (vitamine B12), suggérant un rôle crucial du couple cobalamine / méthionine synthase dans les cellules cancéreuses et dans la survenue de la chimio-résistance par l'intermédiaire de la méthylation. Nous avons trouvé que l'ajout de cobalamine à des cellules d'hépatocarcinome conduisait à une répression du gène *MDR-1* qui ne passe pas par la méthylation du promoteur mais par la voie de méthylation des phospholipides membranaires.

Objectif : Notre objectif est d'étudier les voies métaboliques situées entre le cycle de la méthionine et l'expression du gène *MDR-1*.

Méthodes : Des techniques chromatographiques, électrophorétiques, de culture cellulaire, des techniques de pharmacotoxicologie et d'expression génique sont utilisées sur la lignée d'hépatocarcinome humain HepG2.

Résultats : La répression cobalamine-dépendante du gène *MDR-1* est associée à l'activation de la phospholipase D et du facteur de signalisation Akt ainsi qu'à une inhibition de Cox-2 et de cNOS qui sont impliqués de manière complexe. Le ciblage pharmacologique de ces voies semble potentialiser l'effet d'agents utilisés en chimiothérapie.

Conclusion/Perspectives : Cette étude devrait permettre 1) de mieux comprendre des mécanismes expliquant comment certains médicaments anticancéreux deviennent inactifs 2) de déterminer des paramètres d'optimisation de l'utilisation de ces anticancéreux en relation avec l'expression de *MDR-1* elle-même en relation avec le statut vitaminique B 3) déterminer les impacts de facteurs nutritionnels (cobalamine) dans l'expression de *MDR-1* et 4) peut-être d'orienter la recherche en chimiothérapie vers de nouvelles voies thérapeutiques.

N° 17

Les approches computationnelles comme outil à part entière d'investigation des mécanismes moléculaires ou cellulaires à l'origine d'un cancer

Auteur : Philippe HUETZ

Association de Biophysique Computationnelle et Théorique (ABC&T : www.abct.fr), Besançon

E-mail : huetz.philippe@free.fr

Résumé : Les approches computationnelles revêtent aujourd'hui une importance cruciale, non seulement pour l'ingénierie bioinformatique ou l'exploitation des bases de données, mais dans l'optique de ce qu'elles peuvent apporter comme outil de recherche fondamentale *per se* en parallèle et en synergie avec les investigations expérimentales. Deux thèmes de recherche seront essentiellement abordés :

- la réactivité des thiols au niveau de la protéine membranaire mitochondriale ANT (Adénine Nucleotide Translocase), cible de choix pour des stratégies

thérapeutiques contre le cancer : formation d'un pont disulfure médiée par une réaction avec le glutathion, aboutissant à la mort cellulaire programmée ; - l'origine de l'augmentation de la réactivité du benzo[a]pyrène diol époxyde sur les guanines des dinucléotides CpG quand les cytosines sont méthylées. Le benzopyrène est présent dans la fumée de cigarettes ou les gaz d'échappement des moteurs diesel. L'élucidation de ce mécanisme réactionnel permettra de mieux appréhender l'origine d'un cancer des poumons.

Les premiers résultats de calculs obtenus de ces études seront présentés. D'autres exemples permettront d'illustrer le champ foisonnant des possibilités d'une recherche de solutions à des problèmes biologiques par ordinateur.

N° 18

Caveolin-1, TGFβ/SMAD2 and α5β1 integrins connection in human glioblastoma

Auteurs : Erika C. COSSET¹, Julien GODET^{1,2}, Natacha ENTZ-WERLÉ^{3,4}, Eric GUERIN^{3,4}, Madeline JAILLET^{3,4}, Erwan PENCREACH^{3,4}, Michèle LEGRAIN^{3,4}, Sébastien FROELICH⁵, Dominique BONNET⁶, Monique DONTENWILL¹, Sophie MARTIN¹

¹ Université de Strasbourg, LBP, CNRS UMR 7213; ² Département d'informations médicales, CHU Strasbourg; ³ Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Strasbourg; ⁴ EA4438, Physiopathologie et recherche translationnelle, CHU Strasbourg; ⁵ Service de neurochirurgie, CHU Strasbourg; ⁶ Université de Strasbourg, LIT, CNRS UMR 7200, Strasbourg

E-mail : sophie.martin@unistra.fr

Résumé : Caveolin-1 (cav1) plays a crucial role in cancer development and progression. Although caveolin-1 expression is increased in glioma, cav1 negative (cav1low) and positive (cav1high) cells coexist in glioblastoma (GBM). We reported that cav1low GBM cells exerted a more aggressive phenotype than cav1high GBM cells, suggesting that cav1 is a tumor suppressor in brain tumors. Transcriptomic analysis showed that cav1 represses integrins especially α5β1 integrin so that cav1 and α5β1 integrin expressions were inversely correlated. We identified α5β1 integrin as the mediator of cav1's effect in GBM. This study focused on the mechanisms by which cav1 regulate α5β1 integrin expression. We showed that cav1 affects the TGFβ/Smad2 pathway. Silencing cav1 induced the TGFβ/Smad2 pathway. Conversely, forced expression of cav1 repressed the TGFβ/Smad2 pathway so that cav1 expression and TGFβ/Smad2 activity are inversely correlated. Using selective inhibitors, we showed that the TGFβ/Smad2 pathway was involved in the regulation of α5β1 integrin expression by cav1. Therefore, cav1low cells exert high level of TGFβRI/Smad and α5β1 integrin and vice versa. The reverse correlation between cav1 and α5β1/TGFβ/Smad2 was confirmed in different GBM cell lines. K-means clustering analysis of 148 pediatric and adult brain tumor biopsies allowed the partition of patients in 3 clusters depending on the level of ITGAS, TGFβRI and CAV1. The reverse correlation between cav1 and α5β1/TGFβ/Smad2 was also confirmed in those biopsies. Finally, we showed that cav1low/α5β1/TGFβ/Smadhigh cells (identified as being the most aggressive) are highly sensitive to SB431542 and K34c. In conclusion, cav1 controls α5β1 integrin expression through the TGFβ/Smad2 pathway both *in vitro* and *in vivo*. The status of cav1/α5β1/TGFβ/Smad2 might be a useful marker of the tumor behavior and a predictor of anti-TGFβ or anti-α5β1 integrin therapies.

N° 19

Development of a novel linear amplification technology

Auteurs : Shankar PATTABHIRAMAN, Marco MENDOZA, Hinrich GRONEMEYER

IGBMC, Strasbourg

E-mail : shankar@igbmc.fr

Résumé : Genome wide mapping of transcription factors and complexes have revolutionized our understanding of transcriptional regulation with techniques like ChIP-seq (ChIP sequencing) becoming an essential tool in molecular biology. The extremely small amounts of DNA, which are obtained after a chromatin immunoprecipitation (ChIP) from small amounts of cells (stem cells, CICs) or during re-ChIP experiments, remains a major hurdle to the reliable and widespread use of these techniques. The methods that are currently available for the amplification of ChIP DNA are based on PCR (polymerase chain reaction) and thus are prone to amplification bias. We have developed a novel, single tube T7 RNA polymerase based DNA amplification strategy which eliminates these concerns. Briefly, the technique entails the addition of a thymidine tail permitting the ligation of T7 adaptors. The DNA is amplified by T7 RNA polymerase and the resultant RNA is converted to double stranded DNA for applications such as ChIP-seq. This method dramatically reduces handling, complexity, time and cross contamination, as the steps are performed in a single tube by the sequential addition of reagents, thus eliminating the need for purification after each step. The amplification bias is eliminated by the use of T7 RNA polymerase which has high processivity, fidelity and is not affected by the sequence of DNA, e.g. GC regions. Less than 50 picograms of ChIP DNA have been successfully amplified and sequenced using this methodology. The technique developed will be used to study the epigenetic modifications in cancer stem cells.

N° 20

Development of dinuclear titanocene-ruthenium complexes as possible anticancer agents

Auteurs : Michel PICQUET¹, Frédéric PELLETIER¹, Margota WENZEL, Virginie COMTE¹, Philippe RICHARD¹, Pierre LE GENDRE¹, Olivier ZAVA², Fabio EDAFE², Angela CASINI², Paul J DYSON²

¹ Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne, UMR 5260 CNRS, Faculté des Sciences, Dijon; ² Institut des Sciences et Ingénierie Chimiques, EPFL, Lausanne, Switzerland

E-mail : Michel.Picquet@u-bourgogne.fr

Résumé : Rosenberg's pioneering discovery of the cytotoxicity of cisplatin against cancer cells in 1969 unquestionably opened the way to metallodrugs in the fight against cancer. Therefore, effort has been focused on the development of other platinum-based drugs as well as metallodrugs containing other metal centers. Interestingly, three non-platinum based complexes reached Phase II clinical trials, namely the Ru-based KP1019^{1a} and NAMI-A^{1b} and the MKT-4 formulation of titanocene dichloride (Cp₂TiCl₂)^{1c}.

We have thus synthesised a series of titanocene-ruthenium bimetallic complexes of general formula (η^6 -*p*-cymene)[(η^5 -Cp)(μ - η^5 : κ^1 -C₅H₄(CR₂)_nPR'R'')TiCl₂]RuCl₂. The cytotoxicity of these bimetallic complexes has been evaluated on A2780 ovarian cancer cells and on their cisplatin resistant cell line A2780cisR, showing an activity in the low μ M range being markedly more pronounced than those of the Ru or Ti monometallic analogues [Ru(η^6 -*p*-cymene)(pta)Cl₂] (RAPTA-C) and Cp₂TiCl₂, respectively. Studies of cathepsin B inhibition, an enzyme involved in cancer progression and

metastasis, will also be reported, as well as complementary ESI-MS studies of the interactions of the most active compounds with the model protein ubiquitin. The mechanistic implications of these results will be discussed and a preliminary trend of the structure-activity relationship will be given (2).

References :

- (a) C. G. Hartinger, S. Zorbas-Seifried, M. A. Jakupec, B. Kynast, H. Zorbas, B. K. Keppler, *J. Inorg. Biochem.* 2006, **100**, 891. (b) J. M. Rademaker-Lakhai, D. van der Bongard, D. Pluim, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellens, *Clin. Cancer. Res.* 2004, **10**, 3717. (c) B. W. Müller, S. Lucks, R. Müller, W. Mohr, *Eur. patent* 1991, 0,407,804.
- F. Pelletier, V. Comte, A. Massard, M. Wenzel, S. Toulot, Ph. Richard, M. Picquet, P. Le Gendre, O. Zava, F. EDAFE, A. Casini, P. J. Dyson, *J. Med. Chem.* 2010, *accepted*, Manuscript ID: jm-2010-004804.

N° 21

Aronia melanocarpa fruit juice, a rich source of polyphenols, selectively kills leukemia cells by redox-sensitive mechanism

Auteurs : Tanveer SHARIF¹, Mahmoud ALHOSIN¹, Cyril AUGER¹, Jong Hun KIM¹, Pierre BORIES^{2,3}, Nelly ÉTIENNE-SELLOUM¹, Hinrich GRONEMEYER², Christian BRONNER¹, Guy FUHRMANN¹, Valérie SCHNI-KEHRT¹

¹ UMR CNRS 7213, Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, Université de Strasbourg, Faculté de Pharmacie, Strasbourg; ² IGBMC, CNRS UMR 7104/INSERM U964, Strasbourg; ³ Département d'Hématologie et Oncologie, CHU Strasbourg

E-mail : tanveer.sharif@unistra.fr

Résumé : Epidemiological studies have indicated that intake of polyphenol-rich food such as fruits and vegetables, and beverages such as tea is associated with a reduced risk of mortality due to coronary diseases and cancer. In addition, numerous experimental studies have indicated that several types of polyphenols have anti-cancer activities. Therefore, the aim of the present study was to determine whether aronia juice (Black chokeberry, an extremely rich source of polyphenols, 7.1g/L) induces apoptosis in acute lymphoblastic and myeloblastic leukemia cells, and, to determine the underlying mechanism. Aronia juice inhibited the proliferation of Jurkat cells and caused G2 phase cell cycle arrest and the down regulation of cyclin B1. Moreover, it triggered apoptosis, which was associated with an increased expression level of the proapoptotic proteins p73 and active caspase-3, and the down-regulation of the antiapoptotic protein UHRF1. Furthermore aronia juice significantly increased the formation of reactive oxygen species (ROS) associated with a strong decrease in the mitochondrial membrane potential and the release of cytochrome c. Intracellular scavengers of superoxide anions (MnTMPyP) and of hydrogen peroxide (PEG-catalase), and the antioxidant N-acetylcysteine prevented the aronia juice-induced expression of p73 and active caspase-3, and the down-regulation of UHRF1 and cyclin B1. These findings indicate that aronia juice is a strong inducer of apoptosis in Jurkat cells by a redox-sensitive mechanism involving the intracellular formation of superoxide anions and hydrogen peroxide and consequently the up-regulation of p73 and active caspase-3 and the down-regulation of UHRF1 and cyclin B1. To obtain further evidence for the anticancer properties of aronia juice, its effect was assessed on normal T-lymphocytes from healthy donors and on primary leukemia cells from leukemia patients. Importantly Aronia juice did not affect normal T-

lymphocytes but strongly induced apoptosis in primary leukemia cells. Altogether, these findings indicate that aronia juice is a potent inhibitor of leukemia cell proliferation with little effect on normal T-lymphocytes.

N° 22

Evaluation de l'efficacité et de la tolérance d'un nouveau peptide ciblant la NRP1 destiné au traitement des tumeurs cérébrales

Auteurs : Laure THOMAS, Nadège BAUMLIN, Laurent JACOB, Gérard CRÉMEL, Guy ROUSSEL, Dominique BAGNARD

Inserm U682, Strasbourg

E-mail : Laurethomas313@hotmail.com

Résumé : Les thérapies antiangiogéniques représentent une avancée importante dans le traitement des tumeurs cérébrales mais leur efficacité dans le temps reste modérée. Nous présentons un nouveau peptide anti-tumoral qui cible le segment transmembranaire neuropiline 1, récepteur liant le VEGF et les sémaphorines, dont l'expression est corrélée avec l'agressivité des gliomes. Le blocage de sa dimérisation par le peptide p TM NRP1 empêche l'induction du signal responsable de néoangiogenèse et de migration cellulaire. Son efficacité a été testée in vitro puis in vivo dans des modèles de greffes hétérotopiques de lignée cellulaires gliales humaines chez la souris et montre une diminution de 80% de la taille des tumeurs. Dans le but de proposer un traitement administrable à l'homme nous avons testé sa biodistribution et sa tolérance. Puis pour se rapprocher des conditions physiopathologiques de croissance des gliomes, nous avons testé le peptide sur des tumeurs d'origine humaines transplantées au niveau cérébral chez la souris. Nous présentons également les résultats concernant son efficacité en association avec le temozolomide.

Communication

Comparaison du métabolome humain et du mini porc par la RMN HRMAS

Auteurs : M.A. BENAHMED, F.M. MOUSSALLIEH, K. ELBAYED, M. PIOTTO, A. NEUVILLE, J.P. BELLOCQ, D. MUTTER, I.J. NAMER

Service de Médecine Nucléaire, CHU Strasbourg

E-mail : malika-amel.benahmed@etu.unistra.fr

Résumé : Dans le cadre de l'étude du métabolome de tissus cancéreux, il est important de comparer les données issues de l'analyse spectrométrique par RMN HRMAS des biopsies cancéreuses avec celles de tissus sains, le but est d'étudier les éventuelles différences du profil métabolique pour identifier de potentiels marqueurs de malignité. Lors de l'ablation chirurgicale d'une tumeur qui peut être étendue, il est parfois possible de prélever du tissu sain avoisinant et exempt de pathologie. Cependant, la difficulté de différencier avec certitude le tissu sain du tissu tumoral et le caractère invasif du prélèvement rendent cette méthode laborieuse en pratique courante, d'où l'intérêt d'avoir une base de donnée du métabolome de tissus sains. Parmi les différents modèles animaux utilisés en recherche fondamentale en biologie, le modèle « mini porc » est largement utilisé de part les considérations anatomiques et morphologiques et semble être une piste intéressante dans la constitution de la « métabolothèque ». À notre connaissance peu d'études par métabolomique RMN HRMAS ont été réalisées sur des organes humains ou animaux.

Communication

Peptide-based interference of the transmembrane domain of Plexin-A1, a novel anti-angiogenic drug?

Auteurs : L. JACOB, L. THOMAS, N. BAUMLIN, G. CRÉMEL, G. ROUSSEL, D. BAGNARD

Inserm U682, Strasbourg

E-mail : laurent821@hotmail.com

Résumé : Recently the laboratory we show for the first time that the transmembrane domain of NRP1 can be antagonized in vivo with a peptidic strategy. With this same peptide transmembrane approach we targeted the NRP1 coreceptor Plexin A1 which plays a role too in the angiogenesis and the tumor progression. We will show the result of the efficacy of this peptide in many In Vitro models (angiogenesis tube formation assay and migration assay) and In Vivo models (CAM angiogenesis). Plexin A1 may be a novel target, an other anti-angiogenic in the glioma treatment?

Communication

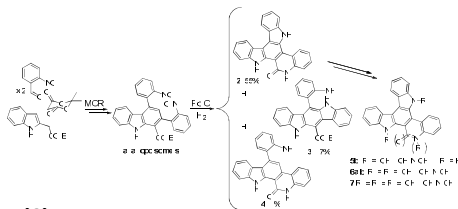
Synthesis and cancer multitarget screening of new carbazole ring systems

Auteurs : Marie LARONZE-COCHARD¹, Fabien COCHARD¹, Etienne DARAS¹, Amélie LANSIAUX², Bertrand BRASSART³, Enquerran VANQUELEF^{1,4}, Elise PROST^{5,6}, Jean-Marc NUZILLARD⁵, Brigitte BALDEYROU², Jean-François GOOSENS⁷, Olivier LOZACH⁸, Laurent MEIJER⁸, Jean-François RIOU⁹, Eric HENON¹⁰, Janos SAPI¹

^{1,5,10} Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR), UMR CNRS 6229, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims; ² Université Nord de France, Laboratoire de Pharmacologie Antitumorale, INSERM U-837, Centre Oscar Lambret, Institut de Recherches sur le Cancer de Lille, IMPRT, Lille; ³ Université de Reims-Champagne-Ardenne, CNRS UMR 6237, IFR 53 Biomolécules, UFR des Sciences Exactes et Naturelles, Reims; ⁴ Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire des Glucides, CNRS UMR 6219, Equipe THERA, Faculté de Pharmacie, Amiens; ⁶ Université Paris Descartes, Synthèse et Structure de Molécules d'Intérêt Pharmacologique, CNRS UMR 8638, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris; ⁷ Université de Lille 2, EA 4034, Laboratoire de Chimie Analytique, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Lille; ⁸ CNRS, Protein Phosphorylation & Human Disease Group, USR3151, Station Biologique, Roscoff; ⁹ Régulation et Dynamique des Génomes, INSERM U565, CNRS UMR 5153, USM 503, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris

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

Résumé : A short path, involving a tetramolecular condensation reaction (1) and a Pd/C catalyst-H₂-mediated reductive *N*-heteroannulation, as key-steps has been found for the synthesis of some new penta- and heptacyclic carbazole derivatives (2, 3 and 4) (2). HF-DFT (B3LYP) energy profiles and NMR calculations were carried out to help in understanding of experimental results. *N*-Alkylated indoloquinolino-carbazoles (5b, 6a,b and 7) were prepared and screened essentially toward some cancer-(G-quadruplex, DNA, topoisomerase I) targets.



Références :

- (1) F. Cochard et al., *Tetrahedron Lett.*, 2004, 45, 1703–1707.
- (2) M. Laronze-Cochard et al., *Org. Biomol. Chem.*, 2010, submitted.

Communication

Initiation de l'assemblage de la ARN polymérase II humaine

Auteur : Kambiz NADERI, Marc VIGNERON

ESBS, Strasbourg

E-mail : kambiz.naderi@unistra.fr

Contexte : La RNA polymérase II (RNAPII) transcrit la quasi-totalité du génome nucléaire eucaryotique. La RNAPII est un complexe constitué de 12 sous-unités qui est très bien connu chez la levure. L'étape initiale de son assemblage est la formation d'un hétérodimère entre les sous-unités RPB3 et RPB11. Le génome humain se distingue par la présence d'une famille de 4 gènes (POLR2J1 à 4) susceptibles de coder plusieurs isoformes de la sous-unité RPB11. Cette famille n'existe pas chez la souris dont le génome contient un gène RPB11 unique. Le contrôle de l'activité de la RNAPII et de son couplage avec les mécanismes de réparation est crucial dans le développement de nombre de cancers. Notons que nous avons observé que certaines mutations de RPB11 se traduisent par un phénotype mutateur chez la levure.

Méthode : Nous avons surproduit et purifié les différentes isoformes humaines de RPB11 dans différents systèmes. Nous sommes parvenu à la cristalliser la protéine codée par POLR2J1 qui est présente dans le complexe RNA polymérase. Les cristaux ont été analysés par diffraction aux rayons X. Nous avons analysé en parallèle les interactions de cette protéine par la méthode des doubles-hybrides ainsi que par FRET.

Résultats : Nous avons démontré que la protéine RPB11 humaine codée par le gène POLR2J1 forme un dimère stable, au contraire de son homologue de levure qui en est incapable. Ce mécanisme d'homodimérisation distingue les isoformes humaines, seuls les dimères entre protéines identiques sont observables.

Discussion : La résolution de la structure de l'isoforme cristallisée n'a pas encore été possible, mais nous poursuivons nos efforts. Pour démontrer quelle est l'importance physiologique de ce mécanisme, nous avons mis au point un système d'expression contrôlé des isoformes dans des cellules humaines qui nous permettra de tester des mutations affectant spécifiquement l'homodimérisation.

Communication

Role of arginine methylation of CBP and p300 in nuclear receptor signaling

Auteurs : Mannu WALIA, Danilo Guillermo CESCHIN, Sandra Simone WENK, Claudine GAUDON, Laurence VANDEL, Hinrich GRONEMEYER

IGBMC, Strasbourg

E-mail : mannu@igbmc.fr

Résumé : Multiple signaling pathways ultimately modulate the epigenetic information embedded in the chromatin of gene promoters by recruiting epigenetic enzymes. We found that in estrogen-regulated gene programming, the acetyltransferase CBP is specifically and exclusively methylated by the arginine methyltransferase CARM1 *in vivo* thereby enhancing both its enzymatic activity and ligand-induced recruitment to estrogen receptor target genes. Interaction with p160/SRC co-activators and CARM1-dependent methylation are requisites for ligand-induced CBP recruitment. Comparative genome-wide chromatin association mapping revealed divergent binding site preference and the existence of distinct binding site repertoires of four methyl-CBP species. Thus, CBP methylation by CARM1 emerges as an unprecedented mechanism that specifies gene-selective association of CBP sub-species and thereby estrogen-induced sub-programs.

Communication

PPAR γ -independent induction of endoplasmic reticulum stress by thiazolidinediones in breast cancer cells

Auteurs : Xiao YAO, Christelle COLIN, Michel BOISBRUN, Yves CHAPLEUR, Stéphane FLAMENT, Isabelle GRILLIER-VUISSOZ

Nancy Université, EA 4421 SIGRETO, Nancy

E-mail : dawnyao@yahoo.com

Background: PPARs are ligand-activated nuclear receptor. Thiazolidinediones (TZD) are synthetic PPAR γ agonists, which inhibit proliferation and migration of breast cancer cell lines. We and others have shown that several effects of TZD do not require PPAR γ activation. In the present study, we aimed to characterize targets of TZD mediated PPAR γ -independent pathway in breast cancer cell lines.

Methods: The effects were studied in the hormone-dependent breast cancer cell line MCF-7 and in the hormone-independent cell line MDA-MB-231. Cells were exposed to Troglitazone (TGZ) and Δ 2-TGZ, a derivative devoid of PPAR γ agonist activity. Proliferation was studied using the cell viability assay "Cell titer glo". Gene expression was analysed by microarray and RT-PCR. Proteins were analyzed by western blotting and immunolocalisation.

Results : TGZ and Δ 2-TGZ inhibited MCF-7 proliferation with an IC50 of 35,4 μ M and 29.7 μ M, respectively. MDA-MB-231 cells appeared more sensitive with an IC50 of 15.8 μ M and 16.6 μ M, respectively. These data were correlated to the level of degradation of cyclin D1 protein after treatment in both cell lines. Microarray data further suggested that Δ 2-TGZ triggered ER stress in MCF7 cells with the significant expression of several ER stress-related genes (DDIT3/CHOP, GRP78/BiP, ATF3...). We confirmed the activation of different ER stress pathways in MCF7 and MDA-MB-231 with the phosphorylation of PERK and eIF2 α , the splicing of XBP-1 as well as the expression of DDIT3 and BiP.

Conclusions: TGZ and Δ 2-TGZ display a significant antiproliferative activity on both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines. The mechanism of action is not fully elucidated, but the PPAR γ -independent activity could be partially mediated by ER stress. Such compounds could be important tools for developing new strategies for breast cancer treatment.

Thème Biomarqueurs et imagerie

N° 24

Etude métabolomique par spectroscopie RMN HRMAS de cancers du rein

Auteurs : K. ELBAYED, F.M. MOUSSALLIEH, M. PIOTTO, A. NEUVILLE, H. LANG, J.P. BELLOCQ, I.J. NAMER

Institut de Chimie, Université de Strasbourg

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

Contexte : Le cancer du rein représente environ 2 à 3% des cancers chez l'adulte et représente la sixième cause de décès dû au cancer. Il est maintenant bien établi que le cancer du rein ne représente pas une pathologie unique, mais plutôt un ensemble de différents types de cancer.

La résonance magnétique nucléaire (RMN) métabolique est, quant à elle, une technique d'analyse spectrale de haute résolution qui permet d'aboutir à un profil métabolique des tissus.

Le but de cette étude rétrospective est de caractériser par spectroscopie RMN HRMAS (haute résolution par rotation à l'angle magique) le contenu métabolique des échantillons intacts de différents types de cancer du rein obtenus à partir de 203 patients traités chirurgicalement d'emblée entre 2005 et 2009.

Méthode : Des échantillons sains et tumoraux issus de biopsies per opératoires des patients ont été analysés par spectroscopie RMN HRMAS (Spectromètre 500 MHz Bruker®, séquence CPMG d'une durée de dix minutes) et les spectres obtenus ont été numérisés puis soumis à une analyse statistique multivariée (logiciel SIMCA-P11, Société Umetrics®, Umeå, Suède).

Résultats : L'analyse discriminante par moindres carrés partiels (PLS-DA) a permis une distinction claire entre les différents types de cancer du rein et le tissu normal. Les spectres obtenus ont permis d'attribuer toute une série de métabolites qui permettent de discriminer le tissu tumoral et le tissu sain.

Conclusion : 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 sera de mettre en rapport le profil métabolique des différents types de cancer du rein et les données cliniques des patients. Cela pourrait permettre de réaliser un suivi des patients sur le long terme.

N° 25

Plate-forme de Recherche Clinique en Cytomique : développements et projets en cours

Auteurs : G.C. FAURE, F. MASSIN, M.C. BÉNÉ, E. LUPORSI, M. DE CARVALHO, T. LECOMPTE

Pôle Laboratoires, CHU Nancy

E-mail : g.faure@chu-nancy.fr

Résumé : La plate-forme de Recherche Clinique en Cytomique du Pôle Laboratoires du CHU de Nancy, mutualisée et ouverte en tant que plateforme du Cancéropôle du Grand-Est a inclus son troisième étage en 2010 avec l'arrivée de l'Image Stream X AMNIS en complément de la Cytométrie Multiparamétrique Multichromatique Navios, et du Cell Search Veridex.

Plusieurs projets sont en cours en dehors de la cancérologie

- exploration clinico-biologique et de la physiopathologie de l'inflammation aigue du sepsis (S Gibot) : CPRC cellules endothéliales et thromboses,

PHRC interrégional biomarqueurs cellulaires et moléculaires du sepsis, Recherche translationnelle Inserm-DHOS « septomique » en collaboration avec l'interrégion (Dijon) et en-dehors (Limoges),

- physiopathologie de la néoangiogénèse pseudotumorale, la Sclérose Tubéreuse de Bourneville,
- pathologies inflammatoires vasculaires et thromboses (V Latger, Th Lecompte)
- pathologies plaquettaires et du globule rouge (V Latger), par le biais de l'étude des microparticules
- analyse des signatures cytokiniques anti-infectieuses spécifiques (BK, CMV, adenovirus) dans les déficits immunitaires acquis (M De Carvalho)

En Cancérologie, ils concernent :

- L'Onco-hématologie : NOE - ELN European Leukemia net, et projets du GEIL Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies sur les leucémies aigues, les myélodysplasies et les syndromes lymphoprolifératifs (MC Béné)

- Le cancer du sein : collaboration avec le Centre d'investigation clinique Cancérologie (E Luporsi)

- Le cancer ORL : collaboration avec le Centre Alexis Vautrin (D Dolivet, JL Merlin), et l'INSERM (thromboses associées au cancer B Faivre)

- Le cancer de la prostate : service d'Urologie (J Hubert, P Eschwege) avec Besançon (P Kleinclauss) et Créteil (S Loric) dans l'optique de la validation des CTCs comme biomarqueur pronostic et analyse de la réponse immunitaire spécifique antitumorale

- Le cancer du poumon : service de Pneumologie (Y Martinet, C Clement-Duchene) en collaboration avec Strasbourg (E Quoix, M Beau Faller)

Les premiers résultats confirment les capacités de détection des CTCs du Cell Search Veridex avec leur grande sensibilité, établissent les valeurs « normales » des CECs et détectent des patients avec des nombres significativement différents confirmant l'intérêt de cette approche en recherche clinique.

N° 26

Microscopie référencée en position : Application au suivi du transfert horizontal d'oncogènes viraux

Auteurs : July GALEANO ZEA¹, Emilie GAIFFE², Patrick SANDOZ¹, Jean-Luc PRETET², Sophie LAUNAY², Christiane MOUGIN²

¹ Département d'Optique PM Duffieux, Institut FEMTO-ST, Université de Franche-Comté, UMR CNRS 6174, Besançon; ² Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, EA3181, IFR133, UFR SMP, Université de Franche-Comté, Besançon

E-mail : july.galeano_zea@univ-fcomte.fr

Résumé : En alternative à la vidéomicroscopie, la microscopie référencée en position s'appuie sur un référentiel gravé sur le support de culture pour identifier la position absolue des zones observées sous le microscope par rapport au support de culture lui-même. Les cultures cellulaires peuvent alors être transférées de l'incubateur au microscope à intervalles réguliers selon les besoins de l'expérience. De retour sous le microscope, il est ainsi possible de retrouver rapidement les zones d'intérêt observées précédemment. La juxtaposition des acquisitions permet une reconstitution des modifications cellulaires et le réajustement numérique des images assure une précision environ cinquante fois meilleure (~20nm) que la précision des platines motorisées disponibles sur les microscopes (~1µm). En pratique, l'utilisateur doit enregistrer une image supplémentaire obtenue par une variation de la profondeur de mise au point. Cette image traitée de façon automatique fournit la position

de la zone d'observation, utile au repositionnement de la culture lors des observations ultérieures.

Cette nouvelle technique a été validée et mise en œuvre pour suivre l'internalisation par des fibroblastes de corps apoptotiques issus de cellules du cancer du col utérin préalablement marqués par du CFDA,SE. Nos premiers résultats indiquent qu'il est possible de documenter de façon extrêmement précise la dynamique des interactions entre les corps apoptotiques et les fibroblastes.

N° 27

Evaluation des déséquilibres génomiques par hybridation génomique comparative dans une série de 17 tumeurs de l'endomètre

Auteurs : E. RAIMOND^{1,2}, E. LANDAIS², J. ANDRIEUX³, P. BIREBAUT⁴, P. FEUCHER², D. FERRE², N. TAPHITHANH², L. LAFON², N. GAVILLON¹, D. GAILLARD², M. DOCO-FENZY^{2,5} et O. GRAESSLIN¹

¹ Service de Gynéco-Obstétrique, CHU, Reims; ² Service de Génétique et Biologie de la reproduction, CHU, Reims; ³ Laboratoire de Génétique Médicale, CHU, Lille; ⁴ Laboratoire Pol Bouin, CHU, Reims; ⁵ UE 3801- Université Reims Champagne Ardenne

E-mail : emilie.raimond@hotmail.com

Résumé : Le cancer de l'endomètre est fréquent chez la femme en Europe. Son pronostic est favorable car il est dépisté précocement. Le risque d'extension à distance et de récurrence est corrélé à des facteurs histopronostiques, néanmoins insuffisants pour prédire l'évolution dans un tiers des cas. Nous avons étudié par caryotypage standard et moléculaire les profils génomiques tumoraux afin de caractériser des zones d'intérêts corrélées au pronostic.

Pendant 6 mois, 23 patientes présentant une hyperplasie (n=6) ou un cancer de l'endomètre (n=17) ont été incluses dans un protocole visant à identifier des déséquilibres quantitatifs génomiques par hybridation génomique comparative. Les ADN de tissu endométrial ont été hybridés sur une puce oligonucléotidique Agilent® 4x44K versus un pool d'ADN endométriaux sains. Un caryotype tumoral a été réalisé.

L'analyse en CGH-array a mis en évidence des réarrangements génomiques pour 3 hyperplasies sur 6 (50%) et 13 tumeurs sur 17 (76%). Les anomalies visualisées par le caryotype et par la CGH-array sont mal corrélées. Ces différences peuvent être expliquées par un biais de prélèvement, de culture, le mosaïcisme (< 20%) et par des déséquilibres cryptiques.

Dans notre étude, les chromosomes remaniés dans les tumeurs de l'endomètre sont les chromosomes 1, 8, et 17. Les types de remaniements retrouvés sont des trisomies (trisomies 8) et des délétions et duplications (partielles ou complètes) de bras de chromosomes et impliquant les régions 8q24 (*C-MYC*) et 17q13.1 (*TP53*). Des déséquilibres inférieurs à 2 Mégabases concernaient des régions comprenant les gènes *hTERT*, *RAD51C*, et *E2F1*.

En conclusion, cette étude montre l'intérêt de la CGH-array pour l'identification et la caractérisation de régions d'intérêts comprenant des gènes potentiellement impliqués dans cette pathologie. Ces résultats seront complétés par l'inclusion d'un plus grand nombre de tumeurs, en étudiant au sein de celles-ci l'expression des gènes de la carcinogénèse endométriale.

N° 28

Histologie spectrale de tumeurs coliques et de leurs métastases hépatiques : développement des méthodes de classification floue (fuzzy C-means) aux données infrarouges tissulaires

Auteurs : David SEBISKVERADZE¹, Valeriu VRABIE², Cyril GOBINET¹, Dominique GUENOT³, Agnès NEUVILLE⁴, Michel MANFAIT¹, Pierre JEANNESSON¹, Olivier PIOT¹

¹ MéDIAN, CNRS UMR 6237 MEDyC, IFR 53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims; ² CRéSTIC, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims; ³ Physiopathologie et Recherche Translationnelle, Université de Strasbourg – EA 4438, INSERM U682, Strasbourg; ⁴ CHU de Strasbourg, Département de Pathologie, CHU Strasbourg

E-mail : david.sebiskveradze@univ-reims.fr

Résumé : La spectroscopie d'absorption infrarouge (IR) permet de sonder la composition moléculaire intrinsèque d'un échantillon. Associée à des systèmes d'imagerie ainsi qu'à des méthodes de classification statistique des données, cette technique biophotonique constitue un outil à fort potentiel pour la caractérisation histopathologique des tissus tumoraux. Les méthodes de classification conventionnelles telles que le clustering «dur» (k-means), permettent de localiser des régions tissulaires d'intérêt (tumeur, tissu péritumoral...) mais ne peuvent pas mettre en évidence les transitions entre différentes structures (interface tumeur/stroma péritumoral). Pour palier cette limitation et mieux caractériser ces zones d'interface, d'importance dans la progression tumorale, nous avons développé une méthode innovante de classification «floue» par fuzzy c-means (FCM). Notre méthodologie est évaluée sur des échantillons de tumeurs coliques (métastatiques ou non) et de métastases hépatiques.

Les images spectrales IR sont acquises sur des coupes fines, sans déparaffinage chimique, ni préparation particulière des tissus. Les données spectrales sont ensuite analysées par un algorithme optimisé FCM. Ce qui permet de reconstruire des images «pseudo-couleurs» de contraste élevé, révélant la structure des tissus. Ces images sont comparées aux colorations HE, réalisées sur des coupes adjacentes, de façon à attribuer les classes spectrales à des structures tissulaires précises (tumeur, stroma, stroma péritumoral, muscle, nécrose...).

Au niveau des tissus coliques, notre approche permet de localiser avec précision les zones tumorales et de caractériser l'hétérogénéité intra-tumorale. Les images «pseudo-couleurs» reconstruites permettent d'extraire des marqueurs spectroscopiques spécifiques du tissu tumoral analysé. Des travaux sont en cours sur les échantillons de métastases hépatiques en vue de comparer les marqueurs spectroscopiques des métastases à ceux des tumeurs coliques.

Communication

Biodistribution of near-infrared emitting CUINS2/ZNS quantum dots by mass spectroscopy and fluorescence imaging of axillary lymph node in healthy mice

Auteurs : Marion HELLE, Emilie PIC, Thomas PONS, Lina BEZDETNYA, François GUILLEMIN, Benoit DUBERTRET, Frédéric MARCHAL

CRAN, Nancy-University, CNRS, Centre Alexis Vautrin, Nancy

E-mail : m.helle@nancy.fnclcc.fr

Background : The biopsy of the sentinel lymph node

is now widely used for the breast cancer. Although this approach has strong advantages, it has its own limitations (manipulation of radioactive products and possible anaphylactic reactions to the dye). As recently proposed, these limitations could in principle be bypassed if semiconductor nanoparticles (quantum dots or QDs) were used as fluorescent contrast agents for the *in vivo* imaging of sentinel lymph nodes. QDs are fluorescent nanoparticles with unique optical properties like strong resistance to photobleaching, size dependent emission wavelength, large molar extinction coefficient, and good quantum yield.

Material and Methods : 20 μ L of 1 μ M CuInS₂/ZnS core/shell QD solution were injected subcutaneously in the right anterior paw of healthy balb/c mice. Animals were sacrificed at different time points after QDs injection. Organs, blood and excretions were collected and analysed by ICP-MS. RALNs and RLTLNs were removed and weighed for histological analysis to visualize inflammatory changes.

Results : CuInS₂/ZnS QDs were observed in RALN, studied organs and blood as soon as 5 min and up to 10 days after the injection by ICP-MS and *in vivo* fluorescence imaging. The maximum amount of QDs in the ALN was detected 24 h after injection and corresponded to 5 % of the injected dose. Histological sections of RALNs dissected 7 days post-injection have shown that the RALN of mice injected with 20 pmol of CuInS₂/ZnS showed no appreciable difference with control LNs.

Conclusion : Effective and rapid detection of ALN using fluorescence imaging of NIR emitting CuInS₂/ZnS QDs in living animals was demonstrated. Nevertheless, the improvement of their surface chemistry are required to allow their excretion, and therefore, to eliminate any risk of toxicity.

Communication

Caractérisation rapide des glycosaminoglycannes : Etude complémentaire par les microspectroscopies infrarouge et Raman

Auteurs : Nathalie MAINRECK^{1,2}, Stéphane BRÉZILLON¹, Ganesh D. SOCKALINGUM², François-Xavier MAQUART^{1,3}, Michel MANFAIT², Yanusz WEGROWSKI¹

¹ Université de Reims, Laboratoire de Biochimie Médicale et de Biologie Moléculaire, CNRS UMR 6237 – MEDyC, Reims; ² Université de Reims, MÉDIAN, CNRS UMR 6237 – MEDyC, Reims; ³ CHU de Reims, Laboratoire Central de Biochimie, Reims

E-mail : nathalie.mainreck@univ-reims.fr

Contexte : Les glycosaminoglycannes (GAGs) sont des polysaccharides qui sont présents à la surface cellulaire et dans toutes les matrices extracellulaires leur conférant leurs principales propriétés physico-chimiques. Les analyses chimiques de GAGs extraits de tissus restent fastidieuses. Nous proposons dans cette étude d'évaluer une analyse alternative de GAGs par microspectroscopies vibrationnelles (infrarouge et Raman).

Méthode : Ces techniques sont sensibles, faciles à utiliser, rapides et directes. Elles fournissent des informations moléculaires à la fois qualitative et quantitative de l'échantillon étudié. Un ensemble d'échantillons représentatif de tous les GAGs a été analysé dans cette étude.

Résultats : Les résultats obtenus montrent que les microspectroscopies infrarouge et Raman permettent de caractériser les différents types et sous-types de GAGs par l'analyse de leur signatures spectrales. Des méthodes d'analyse statistique multivariée ont été ensuite utilisées pour comparer les échantillons. La

Classification Hiérarchique Ascendante des données infrarouge et Raman ont montré une très bonne distinction entre les différentes molécules, et leur degré de sulfatation a été mis en évidence. L'Analyse en Composantes Principales confirme ces résultats et permettent d'extraire les signatures spectrales discriminantes.

Discussion : Les signatures spectrales discriminantes obtenues pourraient être utilisées pour identifier un GAG via sa signature spectrale (infrarouge et Raman). Ainsi la méthodologie peut être utilisée comme test qualité, ou encore pour identifier et quantifier un GAG au sein d'un mélange moléculaire. De plus, cette approche peut être également utilisée pour l'analyse *in vitro* de la composition en GAGs d'un tissu. La spectroscopie Raman permet d'envisager des applications *in vivo*. Les informations spectrales obtenues pourraient aussi servir de marqueurs spectroscopiques dans des processus normaux ou pathologiques (cicatrisation, vieillissement, ...).

Thème Relations hôte-tumeur

N° 29

Influence de micropolluants en mélange sur la croissance de tumeurs testiculaires d'origine germinale

Auteurs : Hussein AJJ¹, Angelina WALLACIDES¹, Sophie PINEL², François PLENAT², Stéphane Flament¹, Amand CHESNEL¹, Hélène DUMOND

¹ Faculté des Sciences, Université de Nancy 1; ² Faculté de Médecine; Université de Nancy 1 - UPRES EA 4421, SIGRETO, Nancy

E-mail : helene.dumond@scbiol.uhp-nancy.fr

Introduction : Au cours des trente dernières années, les observateurs font état d'un doublement des cas de cryptorchidisme et d'hypospadias chez les nouveau-nés ainsi que des cas de cancer testiculaire chez les jeunes adultes, parallèlement à une baisse spectaculaire de la qualité et la quantité de spermatozoïdes dans le sperme. Ces altérations semblent dues à l'exposition du fœtus puis du nouveau-né à des xénobiotiques d'origines diverses, comme des perturbateurs endocriniens possédant une activité œstrogénique ou anti-androgénique. Chez ces individus, les cellules germinales mal différenciées pendant la vie fœtale forment une tumeur dormante jusqu'à la puberté (carcinome *in situ* ou CIS). Notre hypothèse de travail est que sous l'effet des stéroïdes et des rétinoïdes, les cellules de CIS entrent alors en prolifération et forment différents types de tumeurs testiculaires d'origine germinale dont la plus fréquente (50% des cas) est le séminome. Nous avons montré que la vitesse de prolifération de cellules issues de cancers testiculaires dépend, au moins en partie de la présence de stéroïdes et de rétinoïdes, ce qui permettrait de classer les séminomes et les carcinomes embryonnaires parmi les tumeurs hormono-dépendantes. Nous nous proposons ici de compléter cette étude par un projet ciblé sur l'effet de mélanges de certaines catégories de polluants émergents en faible dose sur la prolifération de cellules tumorales d'origine germinale *in vitro* et *in vivo*.

Méthode : Les composés choisis sont des œstrogènes naturels ou synthétiques, perturbateurs endocriniens présents dans la plupart des détergents ménagers comme les nonyl- ou octyl-phénols et des molécules susceptibles de modifier le métabolisme des rétinoïdes.

Nous associons dans ce projet

- une étude *in vitro* sur 2 lignées cellulaires,

comportant une première étape de mise en évidence des effets des mélanges de micropolluants et une seconde étape d'analyse transcriptomique,

- le développement d'un modèle de souris xénotransgéniques pour une analyse *in vivo* et une validation des marqueurs définis *in vitro*.

Résultats : Les premiers résultats obtenus *in vitro* sur la lignée TCam2 indiquent un effet des substances utilisées pour des concentrations de l'ordre du picomolaire sur la prolifération et l'adhésion. Ces effets diffèrent néanmoins selon que les substances sont utilisées seules ou en mélange. D'autre part, l'injection de cellules TCam2 à des souris Nude nous a permis de mettre au point notre modèle de séminome *in vivo*.

Conclusion : La caractérisation des conséquences cellulaires et moléculaires de l'exposition aux mélanges de micropolluants permettra de mieux comprendre et de mieux prévenir les effets de ces composés sur le développement des cancers testiculaires d'origine germinale. A terme, cette étude conduira éventuellement à définir de nouveaux marqueurs d'exposition aux micropolluants en mélange.

N° 30

Mast cells induce growth and migration of human astrocytoma cell lines

Auteurs : Abdelaziz BOUKHARI, Emilie SICK, Philippe ANDRÉ, Gilliane COUPIN, Kenneth TAKEDA, Jean-Pierre GIES

Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Pharmacologie UMR CNRS 7213, Strasbourg

E-mail : boukhari.abdelaziz@unistra.fr

Inflammation is a critical component of tumor progression. It is known that tumor microenvironment is strongly implicated in the neoplastic process. A marked infiltration of mast cells has been observed in the stroma surrounding many tumors but the precise effects of these major inflammatory actors are unknown. Our objective was to study the effect of mast cells on growth and migration of astrocytoma cells.

Methods: Rat peritoneal mast cells were co-cultured with human astrocytoma CCF-STTG1, U87, U373 and SW-1783 cells. Proliferation was assessed by the colorimetric MTS test under conditions allowing or not cell-to-cell contact between the 2 cell types. Migration was evaluated using Transwell® assays. Cytokines secretion was measured using membrane array assays and their expression by RT-PCR.

Results-Discussion: U87 and CCF-STTG1 growth was increased in the presence of mast cells by about 50% and 40% after 24h respectively; this effect depended on the number of mast cells and required cell-to-cell contact between the 2 cell types. Growth of U373, SW1783 cells and normal human astrocytes was not modified by the presence of mast cells. Migration of CCF-STTG1, U87 and U373 cells was increased by 100%, 75% and 100% respectively (24h) in the presence of mast cells. This effect was also dependent on the number of mast cells. Several pro-inflammatory cytokines were highly secreted from CCF-STTG1 and U87 cells in the presence of mast cells such as IL6, IL7 while IL15, IFN- γ and MCP-1 were increased to a lesser extent. IL6 expression, which is known to sustain astrocytoma growth via autocrine/paracrine actions, was dose-dependently increased by histamine in CCF-STTG1 and U87 cells.

Conclusion: Mast cells enhanced growth and migration of several astrocytoma cell lines except SW1783. Further works will be focus on explaining these results and they will be confirmed by *in-vivo* approaches.

N° 31

Conception et synthèse de Quantum Dots couplés à des inhibiteurs sélectifs pour le suivi de la gélatinase A (MMP-2) dans le processus invasif du mélanome

Auteurs : E. BOURGUET, F. ANTONICELLI, W. HORNEBECK, I. NABIEV, J. SAPI

Faculté de Pharmacie, IFR53 Biomolécules, Reims

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

Résumé : Les nanocristaux «Quantum Dots» (QDs), couplés aux inhibiteurs enzymatiques, pourraient permettre d'assurer un suivi des agents pharmacologiques, contribuant ainsi aux études *in vitro* et *ex vivo* du site actif, à une meilleure compréhension du mécanisme d'action, et *in fine* à la conception de nouvelles molécules plus actives et plus sélectives notamment dans le cancer.

Il a été montré que le déséquilibre entre les métalloprotéinases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs naturels (Tissue Inhibitors MetalloProteases) est associé à un phénotype invasif au cours du mélanome. En plus des critères pronostiques habituels utilisés en clinique, il est suggéré qu'une diminution de la survie dans le mélanome puisse être corrélée avec une forte expression *in situ* de la MMP-2, ce qui en fait une cible thérapeutique potentielle.

L'objectif est d'évaluer l'affinité d'analogues synthétiques de la Galardine et leur spécificité sur la MMP-2 impliquée dans le développement de mélanome. Le meilleur inhibiteur sera alors couplé aux QDs de façon covalente. Ces QDs fonctionnalisés nous serviront d'outils pour préciser les interactions en culture cellulaire, de façon spatio-temporelle à la surface de la cellule, des inhibiteurs de la MMP-2.

Les inhibiteurs ont été testés sur leur potentiel inhibiteur de la MMP-2 et de leur spécificité *versus* les autres MMP. Le meilleur inhibiteur sera fonctionnalisé pour être couplé à la biotine qui a une forte affinité non covalente avec la streptavidine, elle-même fixée aux QDs. Les tests de QDs seuls et couplés à l'inhibiteur de MMP-2 seront effectués dans un modèle enzymatique. Le «Nano-tracking» de l'inhibiteur de MMP marqué par les QDs dans les cellules vivantes permettra de visualiser la MMP-2 active lors de l'invasivité cellulaire par émission de fluorescence.

L'influence du composé retenu de par son potentiel inhibiteur et sa sélectivité sera étudiée dans le suivi de ses propriétés invasives du mélanome sur des cellules SK-Mel28 et MEWO.

N° 32

Etude des variations d'expression du collagène IV par les fibroblastes dermiques et les kératinocytes au cours du vieillissement

Auteurs : J. FERU, S. KURDYKOWSKI, R. DEBRET, L. RAMONT, J.C. MONBOISSE, F.X. MAQUART, S. BRASSART-PASCO

Laboratoire de Biochimie, UMR CNRS/URCA 6237, IFR53, UFR Médecine, 51 rue Cognacq Jay, 51095 Reims Cedex

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

Résumé : Le collagène de type IV est constitué par l'association en triple hélice de 3 chaînes α parmi six chaînes possibles ($\alpha 1$ à $\alpha 6$). Il est présent au niveau de la membrane basale de la jonction dermo-épidermique, assurant le maintien de son intégrité et de sa fonctionnalité. Les domaines NC1 des différentes chaînes alpha (IV) possèdent des propriétés anti-tumorales et/ou anti-angiogéniques.

Le vieillissement est généralement associé à un épaississement des membranes basales. Des études préliminaires réalisées par Vazquez et collaborateurs (1996) mettent en évidence une augmentation de l'épaisseur de la membrane basale épithéliale chez des sujets âgés de plus de 35 ans alors que le collagène IV tend à décroître dans les mêmes conditions. Le mécanisme impliqué n'a pas été caractérisé à ce jour. Les fibroblastes dermiques et les kératinocytes sont les deux types cellulaires majeurs participant au dépôt de collagène IV au niveau de la jonction dermo-épidermique.

Nous nous sommes intéressés à l'expression des différentes chaînes alpha de ce collagène par ces deux types cellulaires au cours du vieillissement cutané. Les fibroblastes et kératinocytes ont été isolés à partir de biopsies cutanées et cultivés à confluence en présence de 10% de sérum. Les ARNs ont été extraits et l'expression des gènes d'intérêts analysée par PCR en temps réel. Les chaînes alpha 1 et alpha 2 (IV) sont majoritaires et leur expression diminue significativement au cours du vieillissement. Les chaînes alpha 3 et alpha 4 (IV) ne sont pas exprimées et les chaînes alpha 5 et alpha 6 (IV) ne sont exprimées que très faiblement. La production de collagène IV par les fibroblastes dermiques humains a été analysée par western blot. Les domaines NC1 des chaînes alpha 1 et alpha 2 (IV), détectés au niveau de la couche cellulaire, semblent également diminuer au cours du vieillissement. L'objectif de ce travail est de proposer, à terme, des solutions permettant de rétablir l'expression du collagène IV et des domaines NC1 issus de ce collagène afin de rétablir la fonctionnalité de la membrane basale dermo-épidermique chez la personne âgée et également de lutter contre le développement de cancers cutanés.

N° 33

Lumican inhibits cell migration through the $\alpha 2\beta 1$ integrin

Auteurs : C. ZELTZ¹, S. BRÉZILLON¹, J. KÄPYLÄ³, J.A. EBLE⁴, H. BOBICHON¹, C. TERRYNS⁵, C.M. FRANZ⁶, J. HEINO³, FX. MAQUART^{1,2}, Y. WEGROWSKI¹

¹ Laboratoire de Biochimie Médicale et de Biologie Moléculaire, CNRS UMR 6237, Université de Reims-Champagne-Ardenne, Reims; ² CHU, Reims; ³ Department of Biochemistry and Food Chemistry, University of Turku, Finland; ⁴ Center for Molecular Medicine, Excellence Cluster Cardio-Pulmonary System, Department of Vascular Matrix Biology, Frankfurt University, Germany; ⁵ Plateforme imagerie cellulaire et tissulaire, IBISA, IFR53, Université Reims-Champagne-Ardenne, Reims; ⁶ Center for functional Nanostructures, Universität Karlsruhe, Germany

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

Résumé : Lumican, an extracellular matrix protein of the small leucine-rich proteoglycan family, has been shown to impede melanoma progression by inhibiting cell migration. Previous data from our laboratory suggested the involvement of a $\beta 1$ integrin in cell adhesion to lumican. In the present study, we show that lumican targets $\alpha 2\beta 1$ integrin thereby inhibiting cell migration. A375 melanoma cells were transfected with siRNA directed against the $\alpha 2$ integrin subunit (si- $\alpha 2$) or with negative control siRNA (si-negative). We observed a strong decrease of the $\alpha 2$ integrin mRNA and protein expression 72 hours after transfection in si- $\alpha 2$ cells by RT-PCR and immunocytofluorescence, respectively. Compared to A375 control cells, the anti-migratory effect of lumican was abrogated on A375 cells transfected by the $\alpha 2$ integrin subunit siRNA. Moreover, lumican inhibited the chemotactic migration of Chinese hamster ovary (CHO)

cells stably transfected with $\alpha 2$ integrin subunit (CHO-A2) but not that of wild type CHO cells (CHO-WT) lacking this subunit. In contrast to CHO-WT cells, we observed a decreased of CHO-A2 cell migration speed in presence of lumican in time-lapse microscopy. Using solid phase assays, a direct binding between lumican and the $\alpha 2\beta 1$ integrin was demonstrated. This interaction did not involve the glycan moiety of lumican and was cation-independent. Lumican was also able to bind the I domain of the $\alpha 2$ integrin subunit with a Kd of 300 nM. In conclusion, we have demonstrated for the first time that the inhibition of cell migration by lumican depends on a direct binding between the core protein of lumican and the $\alpha 2\beta 1$ integrin.

N° 34

Le cholestérol membranaire contrôle la libération par clivage protéolytique du récepteur endocytaire LRP-1

Auteurs : Charlotte SELVAIS¹, Pierre J. COURTOY¹, Agnès NOËL², Stéphane DEDIEU³ et Hervé EMONARD³

¹ Unité de Biologie cellulaire, Institut de Duve - Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique; ² GIGA-Cancer, ULG, Liège, Belgique; ³ Faculté de Médecine, CNRS UMR 6237, Université de Reims Champagne Ardenne, Reims

E-mail : herve.emonard@univ-reims.fr

Contexte : LRP-1 ("Low-density lipoprotein Receptor-related Protein"-1) est un récepteur membranaire à double propriété d'endocytose et de signalisation. Il est de ce fait impliqué dans la régulation de nombreuses fonctions associées au développement tumoral (protéolyse de la matrice extracellulaire, migration cellulaire, ...). Son niveau à la membrane plasmique de nombreux types cellulaires est régulé par l'action de protéases entraînant la libération de son ectodomaine dans l'environnement extracellulaire ("shedding").

Méthode : Par diverses approches biochimiques (inhibiteurs de protéases, anticorps bloquant, siRNAs), nous avons recherché les protéases responsables de ce "shedding", ou "sheddases". Nous avons également étudié la régulation de ce processus par comparaison de 2 variants de cellules dérivées d'un fibrosarcome humain, les cellules HT1080, exhibant des niveaux de "shedding" variés.

Résultats : Nous avons identifié 2 "sheddases" appartenant à la famille des métalloprotéinases : l'ADAM 12 et la MT1-MMP. Nous avons également démontré que le taux de cholestérol membranaire régulait le niveau de "shedding" de l'ectodomaine de LRP-1 à la surface de ces cellules.

Discussion : Dans un contexte de pathologie tumorale, l'élimination de la surface cellulaire d'un récepteur endocytaire régulant le niveau d'activité de nombreuses protéases impliquées dans la migration des cellules tumorales apparaît être un mécanisme pouvant stimuler l'invasion tumorale. En effet, la libération sous forme soluble de l'ectodomaine de LRP-1, qui potentiellement possède les mêmes sites de fixation de ligands que la forme membranaire de ce récepteur, pourrait perturber le mécanisme d'épuration endocytaire de ces protéases et ainsi potentialiser leur activité délétère. Savoir si les protéases fixées au LRP-1 soluble sont toujours protéolytiquement actives et/ou si elles échappent à l'inhibition par leurs inhibiteurs spécifiques nécessitera des études ultérieures.

N° 35

3D collagen type I matrix inhibits the antimigratory effect of doxorubicin

Auteurs : Marie GUILBERT¹, Georges SAID¹, Emilie MILLEROT-SERRUROT¹, Laurence VAN GULICK¹, Christine TERRY², Roselyne GARNOTEL¹, Pierre JEANNESSON¹

¹ Unité MEDyC UMR CNRS/URCA n° 6237, UFR Pharmacie, Reims; ² Plateforme Imagerie Cellulaire et Tissulaire, IFR 53, URCA, Reims

E-mail : marie_reims@hotmail.fr

Résumé : The cell microenvironment, especially extracellular matrix proteins, plays an important role in tumor cell response to chemotherapeutic drugs. This study investigated whether this microenvironment can influence the antimigratory effect of an anthracycline drug, doxorubicin, when tumor cells are grown in a matrix of type I collagen, a 3 dimensional (3D) context which simulates a natural microenvironment. For this, we studied the migratory parameters, the integrin expression, and the activation state of FAK and GTPase RhoA involved in the formation of focal adhesions and cell movement. These parameters were evaluated at non toxic concentrations which did not affect HT1080 cell proliferation. It was established that doxorubicin decreased cell migration properties by 70% in conventional 2D culture, but that this effect was completely abolished in 3D one. Concerning the impact of doxorubicin on the focal adhesion complexes, unlike in 2D, the data indicated that the drug neither affected $\beta 1$ integrin expression nor the state of phosphorylation of FAK and RhoA. In conclusion, this study demonstrates the lack of antiinvasive effect of anthracyclines in a 3D environment which is generally considered to better mimic the phenotypic behaviour of cells *in vivo*. Consistent with the previously shown resistance to the cytotoxic effect in 3D context, our results shed more light on the importance of the matrix configuration on the tumor cell response to antiinvasive drugs.

N° 36

Spectral histopathology of paraffinized colon tissue microarrays: a new approach by infrared spectral imaging for colon cancer diagnosis

Auteurs : J. K. NALLALA¹, C. GOBINET¹, O. PIOT¹, V. UNTEREINER¹, O. BOUCHE^{1,3}, G. D. SOCKALINGUM¹, M. MANFAIT¹, M-D. DIEBOLD^{1,2}

¹ Unité MédIAN, Université de Reims Champagne-Ardenne, CNRS UMR 6237 MEDyC, IFR53, UFR Pharmacie, Reims; ² Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Reims; ³ Service d'Hépatogastroentérologie, CHU Reims

E-mail : nallala_krupakar@yahoo.co.in

Introduction: Colorectal cancers are one of the most common types of cancers with a global burden of 639,000 deaths per year (1). As of now, histopathology is the gold standard method for colon cancer diagnosis. However, there is an important need for complementary methods to better understand the changes occurring on the onset and during the progression of colorectal cancers and which are more sensitive and specific. Infrared (IR) spectroscopy can be such a method, since it measures the vibrational modes of chemical bonds present in the tissue thus giving a "spectral fingerprint" of the intrinsic molecular composition. Associated with statistical multivariate data processing such as *k*-means classification, this bio-photonics technique permits to identify, without any staining, regions of interest (tumoral tissue, tumor/stroma interface) that are not discernible by conventional histopathology (2).

Methodology: We used IR imaging in combination with data processing techniques to develop a spectral histopathological method to identify new diagnostic markers characteristic colon tissue biopsies. A total of 15 (3 normal and 12 colorectal adenocarcinoma) IR images were acquired from paraffinized tissue microarrays (TMAs), pre-processed using a modified Extended Multiplicative Signal Correction (EMSC) to avoid chemical de-paraffinization and analyzed using *k*-means clustering. Spectral images were compared to HPS stained images, to construct a spectral image library and to extract spectral markers assigned to either normal or tumoral features. These markers were then color-coded and used to identify automatically these features in unknown normal and/or tumoral samples.

Results: Our results corroborate with conventional histopathology in classifying the tissue biopsies.

Conclusion: This chemical-free IR imaging on paraffinized tissue biopsies constitutes a new basis for spectral histopathology and appears as a promising tool for in-routine cancer diagnosis.

References:

1. World Health Organization, February 2006, Retrieved May 2007
2. Wolthuis R et al. Anal Chem. 2008 Nov 15;80(22):8461-9. Epub 2008 Oct 11

N° 37

Mechanisms underlying bcr-abl-mediated invasiveness of leukemic cells and modulation by Ethoxyfagaronine

Auteurs : S. GRELET, S. SALESSE, J. DEVY, F. OUCHANI, O. DUVAL, L. MARTINY, E. CHARPENTIER

Laboratoire SiRma, UMR CNRS 6237 MEDyC, Reims

E-mail : stephanie.salesse@univ-reims.fr

Résumé : *Bcr-abl* is a fusion gene generated by reciprocal t(9;22)(q34;q11) chromosome translocation and is expressed in chronic myelogenous leukemia and a subset of acute lymphoid and myeloid leukemias. *Bcr-abl* encodes a protein tyrosine kinase (TK) with elevated and dysregulated enzymatic activity that has been shown to play a critical role in leukemic transformation. A characteristic of *bcr-abl*-positive leukemias is a premature release of leukemic cells from bone marrow, followed by infiltration of organs. These processes involve increased invasion of leukemic cells through blood vessel and matrix barriers. The mechanism by which *bcr-abl* induces leukemic cell invasiveness is not completely understood.

To analyse the possible role of *bcr-abl* in leukemic cell invasion, we constitutively expressed *bcr-abl* and a *bcr-abl*-TK deletion mutant in human NALM-6 leukemic cells. The BCR-ABL protein expression and activity were confirmed in our model and a 120% increase in cell invasion was observed in *bcr-abl*-expressing cells. This *bcr-abl*-dependent proinvasive effect seems to be partly TK-independent and was inhibited by metalloproteinase and serine protease inhibitors. *bcr-abl* induced an overexpression of membrane-bound uPAR and pro-MMP2 proteins and increased uPA protein either cytosolic and/or membrane-bound. Moreover, we demonstrated that *bcr-abl* in a TK dependent way, modified cell transit of the secreted ADAM-28 protein and activation of the membrane-anchored ADAM-28. These data suggest that *bcr-abl* may play a critical role in leukemogenesis by enhancing leukemic cell invasiveness through an increased matrix barriers degradation potential.

We then showed that Ethoxyfagaronine, a natural substance derivative described in our laboratory for its anti-invasive potential, totally blocked the *bcr-abl*-

proinvasive effect and might be considered as a alternative treatment in *bcr-abl* positive leukemia.

N° 38

Du développement au cancer : exemple du ciblage de la voie hedgehog et du facteur de transcription Lim1 dans le cancer du rein

Auteurs : Valérian DORMOY, Claire BÉRAUD, Véronique LINDNER, Lionel THOMAS, Catherine COQUARD, Mariette BARTHELMEBS, Denis RAISON, Mazène HOCHANE, Didier JACQMIN, Hervé LANG, Thierry MASSFELDER

Inserm U682, Strasbourg

E-mail : valerian.dormoy@medecine.u-strasbg.fr

Résumé : De nombreux gènes jouent un rôle critique au cours du développement. Une modification de leur expression entraîne l'apparition de pathologies. Le concept que ces acteurs intervenant dans l'homéostasie puissent être réexprimés par des cellules cancéreuses a émergé récemment. Avec l'exemple du rein dont le cancer demeure résistant aux thérapies et 2 voies cruciales pour le développement de cet organe, la voie hedgehog (HH) et le facteur de transcription Lim1 ; nous allons montrer que l'explication de la cancérogénèse et de la progression tumorale passe également par l'implication de voies développementales.

Nous disposons de nombreuses lignées cellulaires rénales et l'accès aux tumeurs humaines. Pour évaluer l'expression des ces 2 voies dans le Carcinome à Cellules Rénales (CCR), nous avons utilisé une approche par RT-PCR et western blot. Des inhibiteurs pharmacologiques ainsi que l'utilisation de transfections de siRNA/cDNA sont utilisés pour évaluer l'effet *in vitro* de la modification de ces acteurs du développement. L'incorporation de BrdU pour évaluer la prolifération et l'utilisation du FACS pour évaluer l'apoptose sont utilisés. La migration est étudiée par l'utilisation de chambres de Boyden et l'activation/interaction d'autres voies oncogéniques est recherché par western blot. Finalement une approche *in vivo* avec l'utilisation de souris nues xénogreffées permet une validation pré-clinique.

Nous avons montré que la voie HH ainsi que Lim1 sont réexprimés dans les tumeurs humaines et dans l'ensemble des lignées. Une inhibition de ces acteurs entraîne une diminution importante de la prolifération ainsi que de la migration. *In vivo*, une inhibition de la croissance tumorale voire des régressions sont observés en ciblant ces voies.

Le ciblage de voies impliquées dans le développement peut constituer une innovation thérapeutique importante dans le traitement des cancers du rein et pose une pièce supplémentaire dans le puzzle moléculaire des mécanismes cancéreux.

N° 39

Development of a mouse model for targeting Tenascin-C in cancer progression

Auteurs : I. GASSER, M. VAN DER HEYDEN, F. GUENARD, A. NEUVILLE, P. SIMON-ASSMANN, M. KEDINGER, D. GUENOT, G. OREND

Inserm U682, Strasbourg; CHU Strasbourg

E-mail : isabelle.gasser@inserm.u-strasbg.fr

Résumé : In addition to the malignant cancer cells themselves, the tumor microenvironment is instrumental in cancer progression. Even combined treatment with inhibitors targeting tumor cells together with endothelial cells seems to be insufficient, presumably because the « tumor bed » with its matrix

persists and promotes resurrection of cancer. Thus, targeting the tumor specific matrix could be an appropriate strategy. The matrix molecule tenascin-C (TNC) is a good candidate for targeting since it is a marker of malignant cancer tissue. Here, a murine orthotopic xenograft model system will be established with the goal to target TNC. Double knock out (KO) mice, immune compromised (Rag2KO) and lacking TNC expression (TNCKO), are created by breeding. Labeled human colorectal carcinoma (CRC) cells or minced human CRC tissue, containing the cancer cells together with its natural microenvironmental components including TNC, is injected into the caecum and tumor growth and metastasis formation is monitored by live imaging. Subsequently, tumor progression upon targeting of TNC with drugs that had been established by us and other laboratories will be determined. This study will provide information about the role of TNC in cancer progression, and may offer the possibility to allow to targeting TNC and other components of the tumor specific microenvironment. Our model may also allow early detection of cancer metastasis by live imaging of TNC.

N° 40

The role of Tenascin-C in Wnt signaling pathway

Auteurs : Anja HEINKE¹, Marija MARKO¹, Falk SAUPE¹, Martial KAMMERER¹, Monika HEGI², Gertraud OREND¹

¹ Inserm U682, Strasbourg; ² CHUV, University Lausanne, Switzerland

E-mail : anja.heinke@inserm.u-strasbg.fr

Résumé : Tenascin-C (TNC), a major component of the tumor microenvironment, is linked to bad prognosis in cancer survival and has been found to play an important role in proliferation, tumor progression, angiogenesis and metastasis. Despite its role as cell adhesion modulating molecule by blocking the signalling of Fibronectin (FN) through inhibition of Syndecan-4 there is little knowledge about the underlying mechanism and signalling events that can be induced by TNC. Glioblastoma cells (T98G) plated on either FN or a mixed FN/TNC substratum show fast and strong down regulation of the canonical Wnt signalling inhibitor DKK1 (Dickkopf 1) on FN/TNC. These data were confirmed by qRT-PCR and Western Blot analysis, for cells grown for 5h up to 12 days. The same effect could also be observed in other cell lines (breast cancer and osteosarcoma). Thus robust repression of DKK1 seems to be a general cell response towards TNC. We found that several Wnt target genes such as Id2, FN and Slug were induced on the FN/TNC substratum. To elucidate the mechanism by which TNC down regulates DKK1 mRNA levels, we currently establish DKK1 promoter luciferase reporter assays. Additional experiments are in progress to investigate a potential regulation at the level of mRNA stability, miRNA expression and DKK1 protein stability as well regulation by upstream signalling. In a transgenic insulinoma RipTag model with ectopic expression of TNC that was developed in our lab (Jia et al., in preparation) we observed a strong repression of DKK1 in tumors with overexpressed TNC, which was linked to induction of several Wnt signaling target genes. Moreover, in 30% of GBM WHO IV (n = 66) we observed a low expression of DKK1 which correlated with robust induction of TNC, cyclin D1/D2 and/or Id2 in the majority of cases. These data suggest that repression of DKK1 by TNC may be an important mechanism for activation of Wnt signaling in cancer progression.

N° 41

Implication de la chaîne de laminine alpha1 dans la tumorigénèse colique

Auteurs : [Elmina MAMMADOVA-BACH](#), Ivo JIVKOV, Agnès NEUVILLE, Sylvie BRASSART-PASCO, Annick KLEIN, Jean-Claude MONBOISSE, Michèle KEDINGER, Patricia SIMON-ASSMANN, Gertraud OREND, Olivier LEFEBVRE

Inserm U682, Strasbourg

E-mail : elmina.mammadova@inserm.u-strasbg.fr

Contexte : Dans les cancers d'origine épithéliale, la transition d'un carcinome *in situ* en un carcinome invasif se caractérise par le franchissement de la lame basale par les cellules cancéreuses, via l'action de protéases qui vont couper certains composants clés de cette structure que sont les laminines et les collagènes de type IV. Il a été montré que des fragments des collagènes de type IV ont des actions anti-angiogéniques absentes des molécules natives. Qu'en est-il des laminines ? Les études du laboratoire sur des tumeurs primaires humaines du cancer du côlon ont montré une augmentation de l'expression de la chaîne de laminine $\alpha 1$ (Ln $\alpha 1$) comparée au tissu sain issu du même patient. Les travaux ont également montré que la Ln $\alpha 1$ est capable d'induire une croissance tumorale plus importante dans un modèle de xéno greffe de cellules tumorales coliques humaines surexprimant la Ln $\alpha 1$ via une augmentation de l'angiogénèse.

Méthodes : Pour confirmer ces résultats chez l'animal, nous avons établi des souris transgéniques surexprimant la Ln $\alpha 1$ dans le côlon.

Résultats : Pour déterminer si un excès de production de cette chaîne peut effectivement favoriser le développement tumoral, deux modèles de tumorigénèse colique ont été utilisés qui ont permis tous deux de montrer que la surexpression de cette chaîne stimule l'apparition de tumeurs *in vivo* également. Nous montrons également dans le modèle de xéno greffes surexprimant la Ln $\alpha 1$, que cette stimulation tumorale passe par une augmentation de l'expression des métalloprotéinases MMP-9 et MT1-MMP et du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGFA au niveau du microenvironnement tumoral.

Discussion : Ces expériences *in vivo* confirment les données cellulaires et démontrent pour la première fois une action spécifique de la Ln $\alpha 1$ sur l'accélération de la progression tumorale colique, le mécanisme d'action étant en cours d'investigation.

N° 42

Analysis of the impact of tenascin-C on tumor progression and angiogenesis in the RIPTAG/TNC model

Auteurs : [Falk SAUPE](#)¹, Yundan JIA², Martial KAMMERER¹, Ruslan HLUSHCHUK³, Anne-Catherine FEUTZ², Michael VAN DER HEYDEN¹, Wentao HUANG², Patricia SIMON-ASSMANN¹, Michèle KEDINGER¹, Valentin DJONOV³, Gerhard CHRISTOFORI², Gertraud OREND^{1,2}

¹ Inserm, U682 & CHU Strasbourg, Department of Molecular Biology, Strasbourg; ² Institute of Biochemistry and Genetics, Center for Biomedicine, University of Basel, Switzerland; ³ Department of Medicine, Gross Anatomy and Vascular Biology, University of Fribourg, Switzerland

E-mail : falk.saupe@inserm.u-strasbg.fr

Résumé : The tumor microenvironment is instrumental in cancer progression. Tenascin-C is a protein of the extracellular matrix and is highly expressed in solid

tumors. High expression of TNC correlates with a bad survival prognosis and resistance toward tamoxifen. Many reports suggest a promoting role of TNC during tumorigenesis by enhancing tumor growth, angiogenesis or metastasis formation but the underlying mechanisms are unknown. We established the first murine tumorigenesis model mimicking high expression of TNC in cancer in insulinoma-prone SV40 Tag-expressing Rip1Tag2 mice (RT2/TNC). Furthermore, we generated the RT2/TNCKO tumor model that lacks endogenous TNC expression. RT2/TNC tumors displayed enhanced proliferation, angiogenesis, carcinoma progression and lung micrometastases which was linked to repression of DKK1, nuclear localization of beta-catenin and induction of the Wnt target Slug. TNC was expressed in matrix tubes that formed a continuum with blood vessels and served as guiding cue for cancer cells, carcinoma associated fibroblasts and endothelial cells. Furthermore, we developed perfusion experiments for fluorescence-labeled lectin and dextran molecules to investigate the implication of TNC in tumor angiogenesis in more detail. Taken into account that current anti-angiogenic therapies seem to fail and rather cause an accelerated metastasis which occurred despite an efficient destruction of blood vessels, we suggest that cleaning of the tumor matrix should be considered as an attractive additional anti-cancer therapeutic approach. Our cancer model might be suitable for testing drugs targeting human TNC.

N° 43

Evaluation d'inhibiteurs de CD13 une cible nouvelle en oncologie

Auteurs : [Céline SCHMITT](#), Manon VOEGELIN, Sarah ALAVI, Eric GUÉRIN, Madeleine JAILLET, Dominique GUENOT, Céline TARNUS

UHA/ENSC, Mulhouse

E-mail : celine.schmitt@uha.fr

Résumé : L'aminopeptidase N ou CD13 est une ectoenzyme appartenant à la classe des métallo-aminopeptidases de la famille M1. Différents travaux impliquent l'e APN/CD13 dans des fonctions aussi variées que l'invasion tumorale, la différenciation, la prolifération et l'apoptose, la motilité cellulaire, l'adhésion et l'angiogénèse, fonctions affectées en premier lieu dans la tumorigénèse. Bien que son activité catalytique extracellulaire soit requise pour ces processus, le mécanisme d'action de cette protéine ainsi que les substrats impliqués ne sont pas clairement identifiés. De nombreuses études ont montré l'implication de l' APN/CD13 dans la néo-angiogénèse tumorale et les travaux de Rangel et al. ont démontré que la néo-vascularisation est profondément inhibée chez des souris n'exprimant plus la protéine APN/CD13. L'expression de cette enzyme n'est pas limitée aux cellules endothéliales angiogéniques, elle est surexprimée par un certain nombre de cellules tumorales. Cette expression semble corrélée avec l'agressivité des tumeurs et un mauvais pronostic pour le malade. Il existe en effet une corrélation étroite entre l'élévation de l'expression de l'APN/CD13, une activité enzymatique accrue et le pouvoir invasif de nombreuses nombreux types de cellules tumorales. Nous avons conçu ces dernières années des molécules originales, inhibiteurs puissants et sélectifs de l'APN (C. Tarnus, Wo8059141, 2008). Nous relaterons ici les études *in vitro* réalisées avec ces nouveaux composés. Les études *in vivo* font l'objet d'une seconde présentation dans le cadre de ce colloque. Nous avons évalué nos inhibiteurs de CD13 sur les cellules endothéliales et sur une lignée tumorale colique humaine :

HUVECs - Nous avons observé, avec des concentrations d'inhibiteurs sub micromolaires et « non cytotoxiques », une inhibition de la morphogénèse endothéliale (organisation des cellules endothéliales en tubes capillaires sur Matrigel®) et une inhibition de la migration induite par de la VEGF.

Cellules coliques Caco2/TC7 - Nous avons testé l'association d'un tel inhibiteur et de la rapamycine, inhibiteur de mTOR, sur la prolifération et la capacité de migration d'une lignée colique humaine. La combinaison des deux drogues ralentit la prolifération et la migration dans le test de comblement de brèche, de cellules coliques Caco2/TC7. De même, l'inhibiteur de CD13 accentue l'inhibition de l'accumulation de Hif-1 ± induite par la rapamycine mais pas par l'irinotécane et l'effet synergique serait indépendant de la voie mTOR. Des études complémentaires *in vitro* actuellement en cours, permettront de spécifier les voies de signalisation activées par CD13 dans la carcinogénèse colique humaine.

N° 44

Mucdhl, un nouveau gène cible du suppresseur de tumeurs coliques Cdx2

Auteurs : I. HINKEL, I. DULUC, E. MARTIN, J.N. FREUND, I. GROSS

Inserm U682, Strasbourg

E-mail : isabelle.hinkel@inserm.u-strasbg.fr

Introduction : L'expression du facteur de transcription homéotique Cdx2 est généralement réduite dans les cancers coliques, ce qui favorise la progression tumorale. Récemment, la comparaison *in silico* de transcriptomes de différents modèles cellulaires coliques nous a permis de trouver une corrélation entre l'expression de Cdx2 et celle de Mucdhl, qui pourrait donc constituer une nouvelle cible transcriptionnelle de Cdx2. Mucdhl code pour une protocadhérine, mais la fonction de ce gène dans les cellules intestinales est inconnue.

Méthodes/Résultats : Des expériences de gain/perte d'expression de Cdx2 dans des lignées cancéreuses coliques montrent que l'expression de Mucdhl varie en fonction de celle de Cdx2. De plus, Cdx2 interagit directement avec la région promotrice de Mucdhl (ChIP) et stimule l'activité d'un gène rapporteur placé sous le contrôle des régions promotrices de Mucdhl. Des mutations ponctuelles de ces régions promotrices ont permis d'identifier les sites cruciaux pour la régulation par Cdx2. Sur le plan fonctionnel, l'expression de Mucdhl dans une lignée cancéreuse colique inhibe la formation de colonies cellulaires dans l'agarose. En outre, Mucdhl interagit avec la bêta-caténine dans des expériences de co-immunoprécipitation et inhibe son activité transcriptionnelle sur un gène rapporteur.

Conclusions : Ce travail représente la première étude de la régulation de l'expression de Mucdhl et identifie le suppresseur de tumeurs Cdx2 comme régulateur transcriptionnel direct dans les cellules intestinales. Mucdhl pourrait avoir une activité anti-tumorale, via l'inhibition de la bêta-caténine, et son expression semble réduite dans les cancers coliques chez l'homme. L'ensemble de cette étude permettra de mieux comprendre le mode d'action de Cdx2 et de caractériser un nouveau gène (Mucdhl) dont l'altération dans les cancers coliques pourrait intervenir dans la progression tumorale.

N° 45

Le gène Fhit contrôle l'invasion des cellules tumorales bronchiques en régulant la transition

épithélio-mésenchymateuse

Auteurs : A. JOANNES¹, A. BONNOMET¹, M. POLETTE^{1,2}, C. GILLES³, P. BIREMBAUT^{1,2}, B. NAWROCKI-RABY¹

¹ INSERM UMR-S 903, IFR53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims; ² CHU, Laboratoire Pol Bouin, Reims; ³ Laboratoire de Biologie des Tumeurs et du Développement, Université de Liège, Belgique

E-mail : audrey.joannes@etudiant.univ-reims.fr

Résumé : Dans de nombreux cancers, le gène Fhit (Fragile Histidine Triad) est la cible fréquente d'anomalies chromosomiques conduisant à une diminution voire à une perte d'expression de l'ARNm et de la protéine. Il a été montré que Fhit jouait un rôle de suppresseur de tumeur de par sa capacité à réguler l'apoptose et la prolifération cellulaire. D'autre part, l'inactivation de Fhit est corrélée à l'agressivité des tumeurs et à la présence de métastases, ce qui suggère que Fhit pourrait être impliqué dans la progression tumorale. Le but de ce travail est de rechercher si Fhit joue un rôle fonctionnel durant le processus d'invasion des cellules tumorales bronchiques. L'expression du gène Fhit est modulée positivement par transfection stable de cDNA et négativement par transfection transitoire de siRNA dans des lignées cellulaires bronchiques invasives et non invasives. Le comportement des cellules transfectées est analysé dans des modèles de migration et d'invasion cellulaire et l'expression des molécules impliquées dans l'invasion tumorale est observée par RT-PCR, western blot, zymographie et immunocytochimie. Nous avons mis en évidence que *in vivo* et *in vitro*, la diminution de l'expression de Fhit est associée au caractère infiltrant des cancers broncho-pulmonaires ainsi qu'à une augmentation des capacités invasives des cellules tumorales. La surexpression et l'inhibition de Fhit induisent respectivement une diminution et une augmentation des capacités migratoires et invasives des cellules tumorales. Ces changements s'accompagnent d'une réorganisation des molécules des jonctions serrées et adhérentes, de modifications de l'expression des MMP-9, -2, -14, et de molécules du cytosquelette telle que la vimentine. Enfin, nous avons mis en évidence que Fhit régule l'invasion via la voie de signalisation ERK/Slug. Ces résultats montrent que Fhit contrôle le phénotype invasif des cellules tumorales via la régulation du processus de transition épithélio-mésenchymateuse.

Travail soutenu par la Région Champagne-Ardenne et le Comité de la Marne de la Ligue contre le Cancer.

N° 46

Implication des molécules des jonctions serrées dans l'invasion tumorale

Auteurs : Emilie LUCZKA¹, Christine GILLES³, Béatrice NAWROCKI-RABY¹, Philippe BIREMBAUT^{1,2}, Myriam POLETTE^{1,2}

¹ Inserm, UMRS 903, IFR53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims; ² Laboratoire Pol Bouin, CHU Reims; ³ Laboratoire de Biologie des Tumeurs et du Développement, Université de Liège, Belgique

E-mail : emilie.luczka@etudiant.univ-reims.fr

Résumé : Lors de l'invasion tumorale, les cellules épithéliales tumorales acquièrent des propriétés migratoires et invasives impliquant des modifications phénotypiques importantes. Parmi ces changements, on observe notamment une réorganisation ou une perte des complexes d'adhérence intercellulaire (jonctions serrées et adhérentes) et l'acquisition d'une capacité à dégrader la matrice extracellulaire (notamment via les MMPs). Dans cette étude, nous

nous sommes plus particulièrement intéressés aux jonctions serrées qui sont constituées de protéines transmembranaires (occludine, claudines) liées au cytosquelette d'actine par des protéines cytoplasmiques sous-membranaires incluant les zonula occludens (ZO-1, -2 et -3). Parmi ces molécules, nous avons évalué le rôle potentiel de ZO-2 dans l'acquisition de propriétés invasives par les cellules tumorales.

Dans ce but, l'expression de ZO-2 est modulée par transfection transitoire de siRNA dans des lignées tumorales de potentiel invasif variable. L'expression des molécules impliquées dans l'invasion tumorale ainsi que la variation des capacités invasives des cellules tumorales sont analysées par Western Blot, RT-PCR, zymographie, immunofluorescence et par des tests d'invasion.

L'expression et la localisation des ZO varient en fonction du potentiel invasif des cellules tumorales. En effet, les ZO sont retrouvés au niveau de la membrane plasmique et du cytoplasme/noyau respectivement dans des cellules tumorales non-invasives et invasives. De plus, l'inhibition de l'expression de ZO-2 dans ces cellules induit une variation de leur capacité invasive in vitro. Ce changement de comportement cellulaire par ZO-2 est corrélé à une régulation de l'expression des MMP-2 et -14.

Ces résultats suggèrent que ZO-2 pourrait jouer un rôle clé dans le processus d'invasion tumorale. Sa capacité à transiter de la membrane au cytoplasme et/ou au noyau lui permettrait d'agir comme une molécule de signalisation en régulant la transcription de gènes.

Travail soutenu par l'INSERM et la Région Champagne-Ardenne.

N° 47

Rôle des peptides de l'élastine dans la progression des carcinomes broncho-pulmonaires

Auteurs : Simon TOUPANCE^{1,2}, Fanja RABENOELINA², Myriam POLETTE^{1,3}, Bertrand BRASSART², Laurent DEBELLE², Philippe BIREMBAUT^{1,3}

¹ Inserm UMRS 903, IFR53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims; ² CNRS/URCA UMR 6237, IFR53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims; ³ Laboratoire Pol Bouin, CHU Reims

E-mail : simon.toupance@free.fr

Résumé : Au cours de l'invasion tumorale, la matrice extracellulaire du tissu broncho-pulmonaire, riche en élastine, subit des remaniements. La dégradation de l'élastine conduit à la production de peptides bioactifs (matrikines). Ces peptides d'élastine (PE) possèdent un récepteur spécifique, le complexe récepteur de l'élastine (CRE), mais peuvent également interagir avec l'intégrine $\alpha\beta 3$ et la galectine-3. Le but de ce travail est d'étudier le rôle des PE et de leurs récepteurs dans la progression tumorale des carcinomes broncho-pulmonaires.

L'action des PE est étudiée sur des lignées épithéliales bronchiques tumorales aux capacités invasives différentes. Les lignées 16HBE (non invasive), Beas2B (peu invasive) et BZR (invasive) sont incubées avec un mélange de PE, la κ -élastine (kE). Leur phénotype infiltrant est caractérisé par des tests en chambre de Boyden modifiée et leur profil protéolytique analysé par zymographie et RT-PCR. Le niveau d'expression des récepteurs est évalué par RT-PCR en temps réel. Enfin, l'effet sur la prolifération cellulaire est étudié par comptage.

Le traitement par la kE entraîne une augmentation des pro-MMP-2 et -9 ainsi que de l'uPA dans les surnageants des trois lignées cellulaires. De plus, la

MMP-2, forme active de l'enzyme, est augmentée dans la lignée BZR. En revanche, les niveaux d'ARNm de ces trois protéases ne sont pas modifiés. Les augmentations au niveau protéique sont dose-dépendantes et constatées dès 1 h de traitement. Par ailleurs, les tests d'invasion révèlent une augmentation du caractère infiltrant des lignées Beas2B et BZR. L'ensemble de ces effets n'est pas inhibé par les antagonistes du CRE. Enfin, le traitement des lignées n'a pas d'impact sur leur capacité à proliférer.

Ces résultats montrent que les PE régulent la capacité invasive des carcinomes broncho-pulmonaires, via la modulation de systèmes protéolytiques. Cette modulation mettrait en jeu des mécanismes post-transcriptionnels et des récepteurs autres que le CRE.

Ce travail est soutenu par le Ministère de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur.

N° 48

Effect of senescence-secreted factors on neoplastic transformation and TRAIL sensitivity

Auteurs : Jelena VJetrovic, Shankar PATTABHIRAMAN, Hinrich GRONEMEYER

IGBMC, Strasbourg

E-mail : jelena@igbmc.fr

Résumé : As the incidence of cancer rises exponentially in the final decades of life in humans the main goal of our research is better understanding of the connection between aging and tumor formation. Senescence, an aging phenomenon, and cancer have been closely linked as senescent cells, via their specific secretory profile, can stimulate nearby premalignant cells to proliferate and form tumors.

TRAIL, an apoptosis inducing ligand and a promising cancer therapeutic, specifically targets only fully transformed cells, while sparing the normal ones. We hypothesized that pro-transformational effect of senescent cells can be used to broaden the effect of TRAIL to target cells that have acquired some, but not all changes on their transformation pathway and thus, are not sensitive to TRAIL.

By using stepwise tumorigenesis model system, we have confirmed that only fully transformed cells go readily into TRAIL induced apoptosis. Importantly, we observed that medium from senescent cells sensitizes pre-transformed cells to TRAIL induced apoptosis. This process of sensitization to TRAIL is specific to senescent conditioned medium.

Pro-tumorigenic action of senescent cells was also shown in vivo where presence of senescent cells enabled these pre-transformed cells to form tumors, which they were not able on their own.

Using chemical inhibitors we identified p38 pathway as a critical component of signaling towards sensitization. This signaling in pre-transformed cells leads to modulation of oncogene Myc and its downstream target FLIP, finally resulting in TRAIL sensitivity.

Dissection of mechanism and identification of secreted factors involved in this process will give us better insight in the close relation between transformation and senescence and provide us with more efficient cancer treatment.

Communication

Effet de l'hypoxie sur l'expression de Cdx2 dans les cellules cancéreuses coliques humaines

Auteurs : L. DERBAL, E. MARTIN, B. ROMAIN, E. PENCREACH, I. GROSS, I. DULUC, J.N. FREUND

Inserm U682 «De l'homéostasie tissulaire au cancer et à l'inflammation », Strasbourg

E-mail : lylia.derbal@inserm.u-strasbg.fr

Introduction : Le gène homéotique Cdx2 code pour un facteur de transcription déterminant l'identité intestinale, qui exerce la fonction de suppresseur de tumeurs spécifique de l'intestin. L'hypoxie intratumorale augmente l'agressivité des cellules tumorales et favorise le processus de néo-angiogénèse, facilitant la dissémination métastatique. Le facteur de transcription HIF-1 α (Hypoxia Inducible Factor) est un acteur majeur de l'hypoxie. L'objectif de ce travail était d'étudier l'effet de l'hypoxie sur l'expression du gène Cdx2 dans les cellules cancéreuses coliques.

Matériel et Méthodes : Les lignées de cellules cancéreuses coliques Caco2, SW480 et HT29-TW6 ont été cultivées en normoxie ou en hypoxie. L'expression de Cdx2 et de HIF-1 α a été évaluée par RT-qPCR et par Western blot. Les cellules SW480 ont été cotransfectées avec le plasmide rapporteur pCdx29-Luc contenant le promoteur de Cdx2, des plasmides d'expression de HNF4 α et GATA6 activant le promoteur de Cdx2, et le plasmide d'expression ou des siRNA@HIF-1 α .

Résultats : L'induction de l'expression de Cdx2 dans les cellules HT29-TW6 est sans effet sur l'induction de HIF-1 α en hypoxie. En revanche, l'hypoxie réduit l'expression Cdx2 dans les cellules Caco2 et SW480. De même, elle réduit l'activité transcriptionnelle du promoteur Cdx2 stimulée par HNF4 α et GATA6. Le blocage de HIF-1 α par un siRNA dans les cellules SW480 ne réduit pas significativement l'effet inhibiteur exercé par l'hypoxie sur Cdx2 et réciproquement la surexpression de HIF-1 α ne provoque pas de réduction de l'expression de Cdx2 en normoxie.

Conclusion : L'hypoxie réduit l'expression du gène suppresseur de tumeurs Cdx2 dans les cellules cancéreuses coliques. L'effet de l'hypoxie sur Cdx2 est indépendant de HIF-1 α . D'autres voies de signalisation sont envisagées telles que mTOR, Akt / PI3K, MAPK/ERK.

Communication

Establishment of transgenic mice with ectopic expression of tenascin-C in the mammary epithelium to address the role of tenascin-C in breast cancer

Auteurs : Ines VELAZQUEZ-QUESADA, Martial KAMMERER, Michael VAN DER HEYDEN, Gerhard CHRISTOFORI, Gertraud OREND

Inserm U682, Strasbourg

E-mail : ines.velazquez-quesada@inserm.u-strasbg.fr

Résumé : In the last years cancer research has focussed not only in deregulated tumor cell growth but also on the microenvironment around the cancer cells. Tenascin C (TNC) is an extracellular matrix protein of the tumor specific microenvironment that is highly expressed in different cancers. TNC is involved in tumor cell proliferation, angiogenesis, invasion and metastasis. In breast cancer, high TNC expression levels are related with a bad prognosis and with resistance toward tamoxifen. Indeed, TNC is one of 5 genes with predictive value for breast cancer lung metastasis.

To analyze the impact of TNC on breast cancer progression we generated transgenic mice which ectopically express TNC under regulation of the MMTV enhancer. These mice were crossed with mice that generate mammary tumors spontaneously (MMTV-NeuNT). Preliminary results indicate that ectopic expression of TNC may increase the number of lung metastasis. Currently we are analyzing endogenous and ectopic TNC expression during mammary gland homeostasis in the virgin, pregnant, lactating and

involuting state. In addition, expression of endogenous TNC is analyzed by RT-PCR and by immunoblotting.

To address the role of TNC in breast cancer progression we are working with a second mouse model that does not express TNC (TNC knockout). These mice are currently crossed with the MMTV-NeuNT mice to determine breast cancer development, tumor angiogenesis and lung metastasis in dependence of the TNC expression levels.

Communication

Evaluation of the anti-angiogenic effect of Ethoxyfagaronine

Auteurs : F OUCHANI, J DEVY, S. SALESSE, J.J. HELESBEUX, I. LETINOIS, O. DUVAL, L. MARTINY, E. CHARPENTIER

UMR CNRS 6237, Laboratoire SIRMa, Reims

E-mail : jerome.devy@univ-reims.fr

Résumé : Angiogenesis is essential for malignant tumor growth and consists in endothelial cell proliferation, migration, and tube formation. It has been well documented for solid tumors but there is emerging evidence suggesting that tumor progression of hemato-lymphoid malignancies also depends on new blood vessel formation. Our previous data demonstrated the anti-leukemic potential of ethoxyfagaronine (Etxfag), a benzo[c]phenanthridine derived from fagaronine. Etxfag is able to decrease *in vitro* invasiveness of L1210 acute lymphoblastic cells by inhibiting plasminogen activator system and both MT1-MMP expression and activation (Devy et al., 2010). Moreover, Etxfag modulates *in vitro* adhesion properties of L1210 cells by decreasing β 1 integrin clustering at the cell surface and by preventing FAK and PYK2 phosphorylation. In this study, we report the anti-angiogenic effect of Etxfag and we show that Etxfag prevents HUVEC tube formation. Mouse aortic ring assay revealed that Etxfag inhibits vascular sprouting, and HUVEC cell migration analyzed by videomicroscopy, showed that Etxfag alters migration speed. Finally, we showed that Etxfag acts by decreasing MT1MMP expression and activation as well as decreasing the phosphorylation of FAK on Y861, two actors implied in cell migration. Collectively, our results showed that Etxfag exhibits a potent anti-angiogenic effect that could constitute an important asset combined with its anti-leukemic potential. Further studies are ongoing to evaluate the anti-angiogenic potential of Etxfag *in vivo*.

Communication

Glycated collagen type I inhibits tumor HT1080 cell migration

Auteurs : Georges SAID¹, Marie GUILBERT¹, Emilie MILLEROT-SERRUOT¹, Laurence VAN GULICK¹, Christine TERRY², Roselyne GARNOTEL¹, Pierre JEANNESSON¹

¹ Unité MEDyC UMR CNRS/URCA n° 6237, UFR Pharmacie, Reims; ² Plateforme Imagerie Cellulaire et Tissulaire, IFR 53, URCA, Reims

E-mail : georges.said@univ-reims.fr

Résumé : Although a strict link does exist between cancer and aging, elderly patients present less invasive tumors than their younger counterparts. During aging, collagen type I, an abundant component of the extracellular matrix, becomes a prominent target of post-translational modifications such as glycation. This study investigated the effect of non-enzymatic glycation of this long-lived protein on the migration of HT1080 cells. Collagen type I extracted from rat tail tendons was used for *in vitro*

glycoxydation with ribose. Tumor cell behaviour was then evaluated on 2-dimensional plastic surfaces coated with native or glycated collagen. Results showed that the proliferation rate of HT1080 cells on glycated collagen did not differ from that on native one. Furthermore, the migration ability of HT1080 cells was studied by quantifying cell speed and trajectories by time-lapse videomicroscopy. At day 1, glycated collagen type I distinctly slowed down cell locomotion by decreasing cell speed by 47%. We next investigated the effect of glycated collagen on the cytoskeleton organization of individual cells in motion. Cells exhibited a dramatic disorganization of F-actin cytoskeleton with loss of stress fibers as compared to native collagen. Actin was principally localized at the rim of the cell. This was accompanied with a disorganization of vinculin that also localized at the cell periphery. The impact of glycated collagen on the non-receptor protein tyrosine kinase FAK was also evaluated. At day 1, glycated collagen significantly inhibits FAK expression by 39% without affecting their phosphorylation state. These data clearly suggest that age-related changes of extracellular matrix proteins may contribute to a less invasive behaviour of tumor cells.

Communication

Role of the Damaged DNA-Binding 2 protein in the regulation of Nuclear Factor-kappa B activation in breast tumor cells

Auteurs : Marie ENNEN, Stéphanie GRANDMANGE, Nadège TOUCHE, Lionel DOMENJOU, Philippe BÉCUWE

EA4421 Signalisation, Génomique et Recherche Translationnelle en Oncologie (SIGReTO), Université Henri Poincaré-Nancy 1, Nancy

E-mail : marie.ennen@scbiol.uhp-nancy.fr

Résumé : The Damaged DNA-Binding 2 protein (DDB2) is known to play a role in nucleotide excision repair in normal cells exposed to UV light. However, we have shown that DDB2 was overexpressed in ER-positive breast tumor cells and played a role in their proliferation by favouring G1/S transition entry and progression through S phase of cell cycle. In addition, DDB2 played this role at least in part, by exerting a negative regulation of the constitutive mitochondrial superoxide dismutase expression. A comparative microarray between wild-type breast tumor MCF-7 cells expressing DDB2 and cells, whose DDB2 was down-regulated by siRNA led us to identify about 664 potential DDB2 target genes. Among them, expression of the gene encoding I kappa B alpha (I κ B α), the cytoplasmic inhibitor of Nuclear Factor-kappa B (NF- κ B), was decreased 58.4 fold in the DDB2-deficient MCF-7 cells in contrast to wild type cells. These results were confirmed by RT-PCR and by Western blot analyses. A consequence of this was an activation of a p50/p65 NF- κ B complex observed by gel shift and supershift assays using nuclear extracts, as well as by measuring the NF- κ B activity and by immunocytochemistry showing the nuclear translocation of p50 and p65 proteins in DDB2-deficient MCF-7 cells in contrast to control cells. Same experiments were carried out with the wild-type breast tumor MDA-MB231 cells not expressing DDB2 and having a high constitutive NF- κ B activity, in which the DDB2 gene was introduced. As consequence, an increase in the I κ B α expression associated with a decrease in the activation of the p50/p65 NF- κ B complex was observed in DDB2-overexpressing MDA-MB231 cells. In conclusion, these results suggest that DDB2 has a clinical interest in breast cancer through its potential involvement in the regulation of the I κ B α

gene and thus in the control of NF- κ B activity, which it is well known to play a role in the breast tumor progression toward metastasis.

Communication

LRP-1 promotes cancer cell invasion by supporting ERK and inhibiting JNK signaling pathways

Benoit LANGLOIS¹, Gwenn PERROT¹, Christophe SCHNEIDER¹, Patrick HENRIET², Laurent MARTINY¹, Hervé EMONARD¹, Stéphane DEDIEU¹

¹ Université de Reims Champagne-Ardenne, CNRS UMR 6237 MEDyC, Laboratoire SIRMa, Reims; ² Cell Biology Unit, de Duve Institute and Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium

E-mail : gwenn.perrot@etudiant.univ-reims.fr, stephane.dedieu@univ-reims.fr

Background: The low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) is an endocytic receptor mediating the clearance of various extracellular molecules involved in the dissemination of cancer cells. LRP-1 thus appeared as an attractive receptor for targeting the invasive behavior of malignant cells. However, recent results suggested that LRP-1 may facilitate the development and growth of cancer metastases in vivo but the precise contribution of the receptor during cancer progression remains to be elucidated. The lack of mechanistic insights into the intracellular signaling networks downstream of LRP-1 has prevented the understanding of its contribution towards cancer.

Methodology / principal findings : Through a short-hairpin RNA-mediated silencing approach, we identified LRP-1 as a main regulator of ERK and JNK signaling in a tumor cell context. Co-immunoprecipitation experiments revealed that LRP-1 constitutes an intracellular docking site for MAPK containing complexes. By using pharmacological agents, constitutively-active and dominant-negative kinases, we demonstrated that LRP-1 maintains malignant cells in an adhesive state that is favorable for invasion by activating ERK and inhibiting JNK. We further demonstrated that the LRP-1-dependent regulation of MAPK signaling organizes the cytoskeletal architecture and mediates adhesive complex turnover in cancer cells. Moreover, we found that LRP-1 is tethered to the actin network and to focal adhesion sites and controls ERK and JNK targeting to talin-rich structures.

Conclusions: We identified ERK and JNK as the main molecular relays by which LRP-1 regulates focal adhesion disassembly of malignant cells to support invasion.

Thème Radiothérapie et Radiobiologie

N° 49

Influence dosimétrique des implants dentaires dans un traitement de radiothérapie externe

Auteurs : C. DE CONTO^{1,2}, R. GSCHWIND¹, E. MARTIN², L. MAKOVICKA¹

¹ IRMA/ENISYS/FEMTO-ST, UMR-CNRS 6174, Montbéliard; ² Service de Radiothérapie – Oncologie, Centre Hospitalier de Belfort – Montbéliard

E-mail : cdeconto@univ-fcomte.fr

Introduction : Actuellement, les tumeurs de la sphère ORL représentent 20 % des cancers traités en radiothérapie et les patients sont en majorité porteurs d'implants dentaires. La problématique de ces implants est double : constitués de matériaux de densités élevées, ils engendrent des artefacts sur l'imagerie scannographique conduisant à des cartes de densités erronées puis lors de la planification, ces hétérogénéités ne sont pas prises en compte dans les algorithmes de calcul de la distribution de la dose, car on atteint les limites d'utilisation.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'influence de ces matériaux dans un traitement de Radiothérapie Conformationnelle par Modulation d'Intensité (RCMI) dont la multiplicité des faisceaux oblige le passage par les arcades dentaires.

Matériels et méthodes : Les mesures ont été réalisées avec un fantôme représentant une mâchoire et trois échantillons (dent saine, dent amalgamée et couronne) en utilisant des détecteurs thermoluminescents (TLD) et des films radiochromiques Gafchromic. Les détecteurs sont positionnés à l'interface et à distance (environ 5 mm) avant et après l'échantillon. Une dose de 1 Gy est délivrée à l'isocentre (au centre du fantôme) par un faisceau de photons de 6 MV de 5 cm x 10 cm en technique distance source-tumeur (DST) de 100 cm sur un accélérateur linéaire Clinac 2100C de Varian.

Résultats : Les résultats préliminaires montrent des surdosages et des sous-dosages respectivement de 20 % avant et 15 % après l'échantillon pour une couronne (densité de 8) par rapport à l'eau. Cette tendance se retrouve dans les essais de simulations Monte Carlo menés en parallèle avec le code OMEGA/BEAMnrc.

Conclusion : L'étude des modifications de doses se poursuivra dans des configurations proches de la clinique, c'est-à-dire avec une arcade dentaire complète comprenant plusieurs implants de fortes densités et également par l'évaluation d'un système de planification de traitement (TPS) dans ces conditions.

N° 50

Détermination des limites d'utilisation d'une plateforme dynamique simulant le mouvement respiratoire en 2D

Auteurs : R. GSCHWIND¹, C. Mabika Ndjembidouma BEAUD¹, E. GAVIGNET¹, C. DECONTO², L. MAKOVICKA¹

¹ IRMA/ENISYS/FEMTO-ST, UMR-CNRS, Montbéliard; ² Service de Radiothérapie – Oncologie, Centre Hospitalier de Belfort – Montbéliard

E-mail : regine.gschwind@pu-pm.univ-fcomte.fr

Contexte : En radiothérapie externe, la planification des traitements est basée sur des images tomographiques figées. Pour tenir compte des incertitudes liées à la fois au positionnement du patient et au mouvement des organes, des marges semi-empiriques sont ajoutées au volume cible pour irradier un volume prévisionnel contenant avec certitude la tumeur. Le mouvement respiratoire est le mouvement physiologique prépondérant chez les patients pour des organes situés dans la zone thoracique et sous-diaphragmatique.

Matériels et méthodes : Pour évaluer avec précision le déplacement lié au mouvement respiratoire, une plateforme dynamique a été développée. Elle permet de simuler le mouvement respiratoire rigide en deux dimensions dans le sens tête-pied (ou cranio-caudal) et antéro-postérieur, car la quantification du mouvement de la tumeur pulmonaire dans les trois directions spatiales montre une prépondérance dans ces directions. Son élaboration technique a dû répondre à un cahier des charges précis. En particulier, le passage du prototype au scanner requiert un faible encombrement et un minimum de matières métalliques. Les difficultés principales de conception ont ainsi concerné l'usinage de la matière plastique et le placement des moteurs pour altérer le moins possible la qualité de l'image tomographique. La plateforme peut ainsi accueillir des fantômes de densité équivalent tissu et de poids non négligeable.

Résultats : La plateforme est capable de simuler un mouvement respiratoire couplé dans les deux directions pour un fantôme d'un poids maximum de 6 kg. En mouvement longitudinal seul, elle peut accueillir un fantôme de 25 kg. Les moteurs de la plateforme sont commandés par une interface homme-machine sous Labview. Afin de quantifier le mouvement simulé, des mesures dosimétriques ont été réalisées avec des détecteurs thermoluminescents GR200A et des films Gafchromic EBT dans des configurations cliniques avec un accélérateur VARIAN 2100C/D.

Conclusion : Les résultats obtenus ont permis à la fois de mieux estimer le mouvement respiratoire sous irradiation et de définir les axes d'amélioration de la conception du prototype.

Index



A

Ajj H. p. 42
Albert H. p. 16
Alpy F. p. 33
Antony P. p. 33
Asmane I. p. 24
Audran E. p. 34

B

Bagnard D. p. 18
Bana E. p. 32
Barberi-Heyob M. p. 19
Baumlin N. p. 20
Beau-Faller M. p. 21
Benabderrahmane S. p. 17
Benahmed M.A. p. 38
Bettaïeb A. p. 21
Binder-Foucard F. p. 13
Bonithon-Kopp C. p. 13
Bonnetain F. p. 11
Boukhari A. p. 43
Bourguet E. p. 43
Brassart-Pasco S. p. 43
Brézillon S. p. 44
Burckel H. p. 34

C

Chastagner P. p. 27
Chrétien A.S. p. 22
Cléau H. p. 31
Curé H. p. 25, 28

D

Daguenet E. p. 33
Dantzer F. p. 16
Davidson I. p. 15
De Conto C. p. 52
Derbal L. p. 49
Devy J. p. 50
Dormoy V. p. 46

E

Elbayed K. p. 40
Emonard H. p. 44
Ennen M. p. 51

F

Faure G. p. 40
Ferières I. p. 30
Fève M. p. 34
Fumoleau P. p. 24

G

Galeano-Zea J. p. 40
Gangi A. p. 20
Garrido C. p. 17
Gasser I. p. 46
Giustiniani J. p. 35
Gkikopoulou E. p. 35
Graesslin O. p. 14
Grandclément C. p. 23
Grange F. p. 12
Gschwind R. p. 52
Guilbert M. p. 45

H

Hamidou Z. p. 12
Heinke A. p. 46

Helle M. p. 41
Hinkel I. p. 48
Huetz P. p. 36
Humbert S. p. 20

J

Jacob L. p. 38
Joannes A. p. 48
Jung A. p. 35

K

Kedinger V. p. 19
Klein D. p. 30

L

Labouesse M. p. 18
Lamberth F. p. 31
Laronze-Cochard M. p. 38
Leboeuf C. p. 23
Luczka E. p. 48
Luporsi E. p. 26

M

Magnin S. p. 28
Mainreck N. p. 42
Mammadova-Bach E. p. 47
Marrer E. p. 31
Martin S. p. 36

N

Naderi K. p. 39
Nallala J.K. p. 45
Namer I.J. p. 20
Nerich V. p. 14
Nguyen A. p. 27
Nguyen T.D. p. 30
Noël G. p. 22

O

Oudet P. p. 15

P

Pattabhiraman S. p. 37
Paul C. p. 18
Pavet V. p. 18
Perrot G. p. 51
Picquet M. p. 37
Pons B. p. 32

Q

Quoix E. p. 26

R

Raimond E. p. 41
Rommelaere J. p. 15
Rotonda C. p. 11

S

Said G. p. 50
Salesse S. p. 45
Saupe F. p. 47

Schmitt C. p. 47
Sebiskveradze D. p. 41
Sharif T. p. 37
Soutoglou E. p. 16

T

Thomas L. p. 38
Toupance S. p. 49
Truntzer C. p. 17
Tzanova T. p. 32

V

Velazquez-Quesada I. p. 50
Vjetrovic J. p. 49
Voegelin M. p. 22

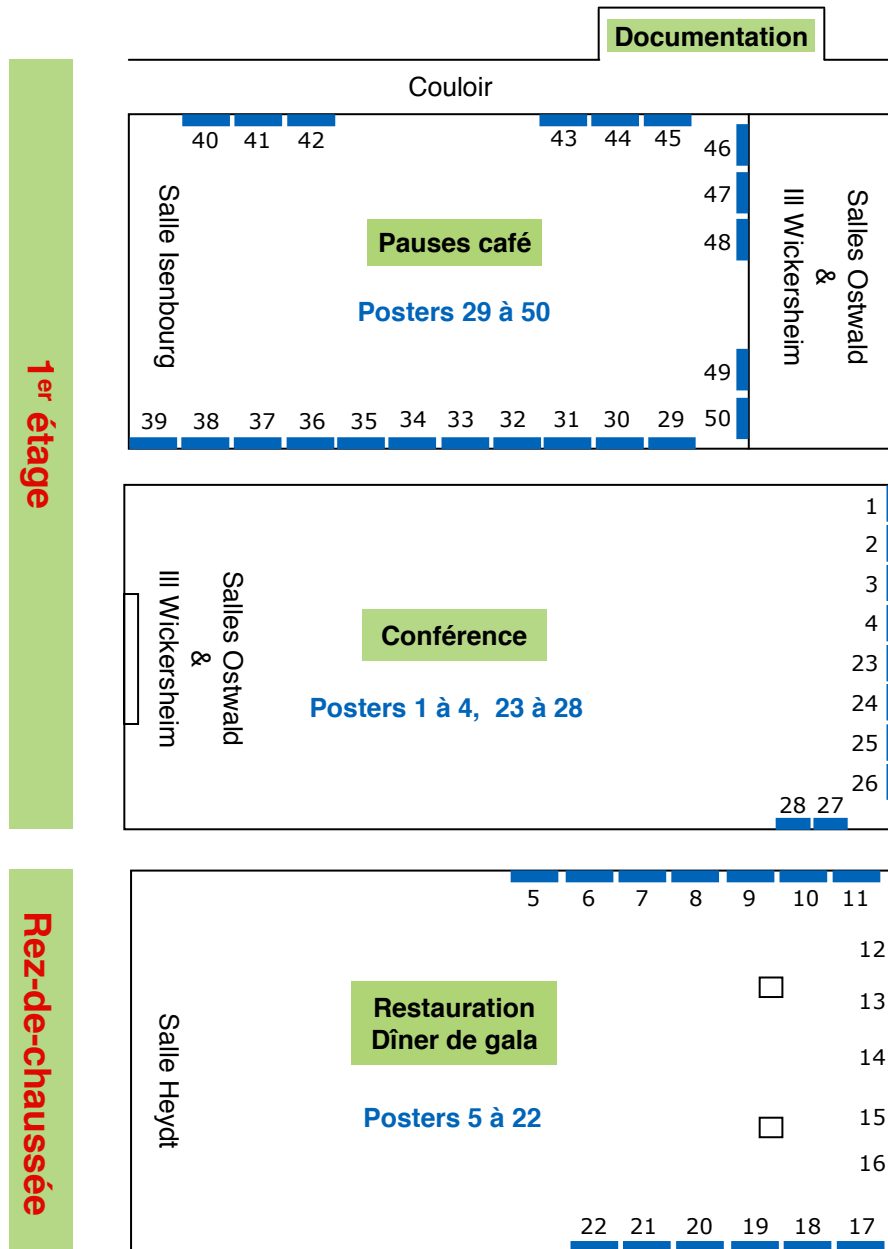
W

Walia M. p. 39

Y

Yao X. p. 39

Plan de la manifestation



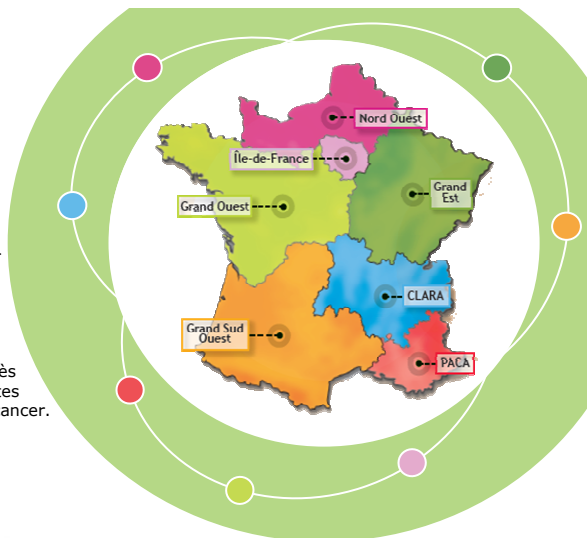
Contact: Dominique Marilley, PhD – Tél.: +33 (0)6 77 27 65 48
 Les halls et salles du Château de l'Île sont équipés du système WIFI

Le contexte

Depuis 2003, 7 Cancéropôles soutenus par

- L'Institut National du Cancer (INCa)
- Les collectivités territoriales
- Les associations caritatives

mobilisent acteurs et ressources technologiques et hospitalières afin d'accélérer l'accès des patients aux innovations les plus récentes dans le domaine de la recherche contre le cancer.

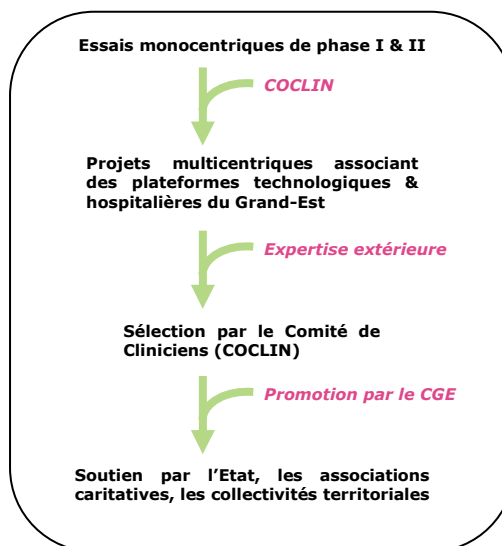
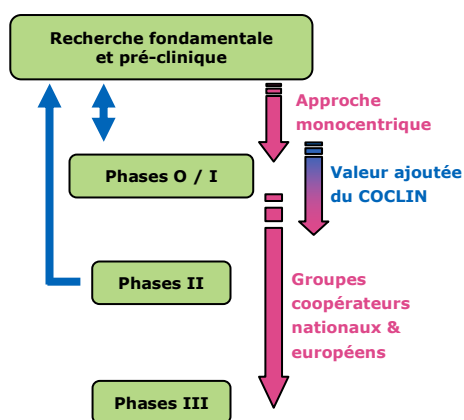


Le CGE



- **Décliner la politique nationale de l'INCa:** contribuer au montage, à la promotion et au suivi de projets de recherche inter-régionaux multidisciplinaires compétitifs favorisant les croisements entre recherche fondamentale et clinique.
- **S'articuler avec les politiques de R&D des cinq Conseils Régionaux et des instances territoriales:** soutenir l'émergence de projets de recherche collaboratifs, encourager la création, le développement et la mutualisation de plateformes technologiques et hospitalières.

Du laboratoire aux thérapies au sein du CGE



D. Marilley - CGE