

5^{ème} Forum



Le 2-3 novembre 2011 au Palais des Congrès à Strasbourg

www.canceropole-ge.org/forum

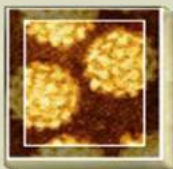
Les 5 Thématiques Prioritaires 2011-2014 du CGE



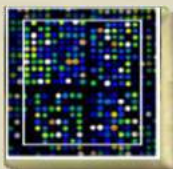
**Indicateurs de Santé, Epidémiologie,
Sciences Humaines et Sociales**



**Recherche Translationnelle
(Biomarqueurs, Imagerie, Essais Précoces)**



Infections Virales et Cancer



« Omiques » Fonctionnelles des Cancers



Immunité et Cancer



CANCÉROPÔLE DU GRAND-EST

www.canceropole-ge.org

Comité Scientifique






Joseph ABECASSIS	Laboratoire de Biologie Tumorale, Centre Paul Strauss, Strasbourg (référent régional)
Muriel BARBERI-HEYOB	CRAN, UMR CNRS 7039, Nancy-Université, Nancy
Michèle BEAU-FALLER	Service de Pneumologie, CHU, Strasbourg
Ali BETTAIEB	Inserm U866, EPHE, Université de Bourgogne, Dijon
Philippe BIREMBAUT	Inserm UMR S903, Laboratoire Pol Bouin, CHU Reims (référent régional)
Christophe BORG	Service d'Oncologie Médicale du CHU, UMR 645 - IFR133, EFS Bourgogne Franche-Comté, Besançon (référent régional)
Pascal CHASTAGNER	Service d'Onco-hématologie pédiatrique, CHU, Nancy
Laurent DEBELLE	MEDyC, UMR CNRS 6237, Université de Champagne-Ardenne, Reims
Régis DELAGE-MOURROUX	EA 3922, IFR 133, Université de Franche-Comté, Besançon
Vincent Di MARTINO	Service d'Hépatologie, CHU, Besançon
Monique DONTENWILL	Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, UMR CNRS 7213, Strasbourg
Bernard DRENOU	Hématologie, Centre Hospitalier, Mulhouse
Jean FAIVRE	Inserm U866, Faculté de Médecine, Registre Bourguignon des Cancers Digestifs, Dijon (référent régional)
Pierre FUMOLEAU	Service d'Oncologie, Centre Georges-François Leclerc, Dijon (animateur du Comité de Cliniciens)
Christian GARBAR	Laboratoire de Pathologie, Institut Jean Godinot, Reims
Olivier GRAESSLIN	Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU, Reims
Marc GUENNEUGUES	Chargé de mission scientifique du CGE
Francis GUILLEMIN	Ecole de Santé Publique, CIC-EC INSERM, CHU Nancy (référent régional)
Mariette MERCIER	UFR-SMP, CHU, Besançon
Olivier MICHEAU	Inserm U866, Université de Bourgogne, Dijon
Pierre OUDET	Directeur Scientifique du CGE
Elisabeth SPITZ	Laboratoire de Psychologie Cognitive et Clinique, Université Paul Verlaine, Metz

Pierre OUDET – Directeur Scientifique du CGE
CHU et Université de Strasbourg

Le Cancéropôle du Grand-Est (www.canceropole-ge.org) mobilise depuis 2004 chercheurs et cliniciens des CHU, centres de lutte contre le cancer, universités et organismes de recherche des cinq régions du Grand-Est : l'Alsace, la Bourgogne, la Champagne-Ardenne, la Franche-Comté et la Lorraine.

Sa mission consiste à développer et consolider une recherche compétitive et innovante sur le cancer et à sensibiliser le grand public et les professionnels de la santé aux progrès et défis de cette recherche. Son activité repose sur la déclinaison de deux piliers : le **Plan Cancer** piloté par l'Institut National du Cancer (INCa) et la **mobilisation des institutions et collectivités territoriales du Grand-Est**.

2011 représente une année phare avec l'achèvement du Programme des Cancéropôles 2007-2010 (PROCAN I) et l'évolution vers PROCAN II (2011-2014). Un bilan et un plan d'action viennent d'être évalués par l'AERES (Agence d'Évaluation de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur) mandatée par l'INCa. Le CGE est un des 2 cancéropôles dont les progrès ont été récompensés (www.e-cancer.fr/aap/resultats-de-laac-labellisation-des-canceropoles). La coordination du CGE poursuit la dynamique engagée sous PROCAN I qui s'inscrit au sein de **5 thématiques prioritaires** couvrant l'ensemble des disciplines clé de la recherche contre le cancer :

-  A – Indicateurs de Santé, Épidémiologie, Sciences Humaines et Sociales
-  B – Recherche Translationnelle (biomarqueurs, imageries, essais précoces)
-  C – Infections Virales et Cancer
-  D – « Omiques » Fonctionnelles des Cancers
-  E – Immunité et Cancer

L'objectif reste le même : mobiliser et réunir chercheurs et cliniciens autour de projets de recherche translationnelle en cancérologie répondant à un besoin clinique non couvert et s'appuyant sur des ressources technologiques et hospitalières du Grand-Est.

Le **Forum du CGE** permet aux acteurs du Grand-Est, qu'ils soient chercheurs, cliniciens ou industriels, de promouvoir les avancées et les collaborations, de consolider des synergies et d'en tisser de nouvelles. Ce rendez-vous, je l'ai souhaité encore plus attractif cette année et j'ai donc le plaisir, avec mon équipe, de vous accueillir le 2-3 novembre prochain au Palais des Congrès de Strasbourg.

Programme du 5^{ème} Forum	4
2 novembre	4
3 novembre	7
Résumés des interventions et des communications orales	11
2 novembre	
Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS	11
Recherche Translationnelle (Biomarqueurs, Imagerie, Essais Précoces)	15
Infections Virales et Cancer	20
3 novembre	
« Omiques » Fonctionnelles des Cancers	23
Immunité et Cancer	27
Résumés des posters	32
Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS	32
Recherche Translationnelle	33
Infections Virales et Cancer	37
« Omiques » Fonctionnelles des Cancers	38
Index	46
Plan de la manifestation	47

Programme du 2 novembre

Introduction

(10h00-10h30)

- Le Cancéropôle du Grand-Est – **Pierre OUDET**, *Directeur Scientifique*

Indicateurs de santé – Epidémiologie – SHS

(10h30-13h00)

Chairman : Jean FAIVRE

Inserm U866, Registre Bourguignon des Cancers Digestifs, CHU - Dijon

- Comment s'explique l'amélioration du pronostic du cancer colorectal ? – **Anne-Marie BOUVIER**, *Inserm U866, Registre Bourguignon des Cancers Digestifs, CHU, Dijon*
- La plateforme inter-régionale « Qualité de Vie et Cancer » : état des lieux – **Michel VELTEN**, *Laboratoire d'épidémiologie et de santé publique, Registre des Cancers du Bas-Rhin, EA3430, Strasbourg*
 - **Le projet inter-cancéropôles Céole** : « Evaluation et validation d'échelles de qualité de vie en phase palliative avancée chez des patients atteints d'un cancer » - **Anne-Lise SEPTANS-POIRIER**, *Centre Paul Papin, Angers*
 - **Le projet intra-cancéropôle AlimK** : « Essai prospectif multicentrique évaluant l'efficacité de la nutrition parentérale sur la qualité de vie et la survie globale chez des patients en phase palliative d'un cancer » - **Régis AUBRY**, *Département Douleur / Soins palliatifs, CHU, Besançon*
- Données agrégées d'incidence du cancer : modèles spatiaux – **Erik-André SAULEAU**, *Département de Biostatistiques, Faculté de Médecine, Strasbourg*
- Epidémiologie des tumeurs cérébrales et dynamique du groupe de neuro-oncologie du Nord-Est (NENO) – **Luc TAILLANDIER**, *Service de Neurologie, CHU, Nancy*
- Le burnout des personnels en oncologie : une étude nationale – **Didier TRUCHOT**, *Laboratoire de Psychologie, Besançon*

Communications orales :

1. Caractéristiques et déterminants des mélanomes épais : une étude basée sur la population dans l'inter-région Nord-Est – **Florent GRANGE**, *Centre de Recherche, CHU, Reims*

Programme du 2 novembre

2. Mélanome cutané infiltrant en France : évolution de l'incidence et variations géographiques en fonction des facteurs histopronostiques sur la période 1998-2005 – **Florence BINDER-FOUCARD**, *Registre des cancers du Bas-Rhin, Faculté de Médecine, Service de santé publique du CHU, Strasbourg, réseau FRANCIM*

3. Second primary cancer among head and neck cancer survivors – **Jérémy JEGU**, *Registre des Cancers du Bas-Rhin, Département d'Epidémiologie et de Santé Publique, EA 3430, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg*

4. Le médecin et le patient face à une décision de limitation ou d'arrêt des thérapeutiques spécifiques d'un cancer en phase avancée – **Yvan BEAUSSANT** *Service d'hématologie et Inserm CIT808, CHU de Besançon, Espace Ethique Bourgogne Franche-Comté*

Cocktail déjeunatoire et session de posters

(13h-14h30)

Recherche Translationnelle

(biomarqueurs, imagerie, essais précoces)

(14h30-17h10)

Chairman : Jean-Louis MERLIN

Centre Alexis Vautrin, EA 4421 SiGrETO, Nancy Université - Nancy

- Using transcription factors, microtubule associated proteins and ion channels to develop targeted therapies for cancer – **Boh WASYLYK**, *IGBMC, Strasbourg*
- Impact of tenascin-C on tumor progression and angiogenesis in the Rip1-Tag2 tumorigenesis model – **Falk SAUPE**, *Inserm U682, Strasbourg*
- Challenges et promesses de la pharmaco-imagerie multiparamétrique en oncologie – **Olivier DUCHAMP**, *OncoDesign, Dijon*
- Optimisation de la distribution de dose en 3 dimensions de la curiethérapie utéro-vaginale à débit pulsé des cancers du col localement avancés – **Didier PEIFFERT**, *Centre Alexis Vautrin, Nancy*
- La dérégulation de l'ostéogenèse normale conduit au développement des ostéosarcomes pédiatriques – **Natacha ENTZ-WERLE**, *Service de Pédiatrie, CHU, Strasbourg*
- Nouvelles cibles diagnostiques et thérapeutiques du Syndrome de Sezary – **Armand BENSUSSAN**, *Institut Jean Godinot, Reims*

Programme du 2 novembre

Communications orales :

1. Identification de biomarqueurs protéomiques prédictifs du carcinome hépatocellulaire chez des patients cirrhotiques – **Caroline TRUNTZER**, CLIPP (Clinical Innovation Proteomic Platform), IFR 100 Santé STIC, CHU, Université de Bourgogne, Dijon
2. Nutlin-3a abrogates $\alpha 5\beta 1$ integrin-induced inhibition of p53 pathway in Temozolomide- treated human glioblastoma – **Hana JANOUSKOVA**, CNRS UMR 7213, Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg, Strasbourg
3. Effet tumoricide photoinduit par le ciblage cellulaire et vasculaire de tumeurs – **Julie GARRIER**, Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN), Nancy-University, CNRS UMR 7039, Centre Alexis Vautrin, Nancy
4. Diagnostic de la leucémie lymphoïde chronique sur des frottis sanguins par microspectroscopie Raman et classification supervisée – **Teddy HAPPILLON**, MÉDIAN, CNRS UMR 6237 MEDyC, IFR 53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims

Pause café et session de posters

(17h10-17h40)

Infections Virales et Cancers

(17h40-19h20)

Chairman : Christine CLAVEL

Laboratoire Pol Bouin du CHU, Inserm UMRS-903 - Reims

- Roles and regulation of microRNA in viral infections and cancer – **Sébastien PFEFFER**, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg
- Immunothérapie des maladies infectieuses (en attente du titre exact) – **Jean-Marc LIMACHER**, Transgene, Strasbourg
- Recent advances on the structure of papillomavirus oncoproteins open new research avenues for future therapeutic strategies against cervical cancers – **Gilles TRAVE**, Ecole Supérieure de Biotechnologie de Strasbourg, Strasbourg
- START-HPV: French HPV-based primary screening pilot program for cervical cancer – **Véronique DALSTEIN**, Laboratoire Pol Bouin du CHU et Inserm UMRS-903, Reims

Communications orales :

1. Les Papillomavirus Humains (HPV) dans la cancérogenèse du cancer du canal anal: à propos de 87 cas – **Séverine VALMARY-DEGANO**, EA3181 «Carcinogenèse épithéliale» - IFR 133 « IBCT » - UFR SMP, Besançon

Programme du 2 novembre

2. Adenovirus-mediated RNA interference as new therapeutic tool against cervical cancer – **Anaëlle BONETTA**, UMR 7242 Biotechnologie et signalisation cellulaire, Département intégrité du génome, Equipe Oncoprotéines, Strasbourg

Dîner de gala

(dès 20h00)

Programme du 3 novembre

Les « Omiques » Fonctionnelles des Cancers

(8h30-11h50)

Chairman : **Cécile ROCHETTE-EGLY**
IGBMC - Strasbourg

- Récepteurs nicotiniques et cancers broncho-pulmonaires – **Jean-Marie TOURNIER**, Inserm UMRS-903, Reims
- A cytoplasmic isoform of ATF7 transcription factor impairs both ATF7 and ATF2 phosphorylation and transcriptional activities – **Bruno CHATTON**, ESBS, Strasbourg
- Elastokines et progression tumorale – **Laurent DUCA**, MEDyC, UMR CNRS 6237, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims
- Rôle de l'ubiquitine hydrolase ASP22 dans le remodelage de la chromatine – **Didier DEVYS**, IGBMC, Strasbourg
- Quantitative and sensitive detection of rare mutations using droplet-based microfluidics – **Andrew GRIFFITHS**, ISIS, Strasbourg
- Génomique et phénotypage : deux infrastructures strasbourgeoises au service d'une approche médicale personnalisée – **Irwin DAVIDSON** (IGBMC, Strasbourg) et **Yann HERAULT** (Institut Clinique de la Souris, Strasbourg)

Pause café et session de posters

(10h30-11h00)

Programme du 3 novembre

Communications orales :

1. Analyse des voies de signalisation dans un modèle de progression tumorale associé à une inflammation dans l'intestin – **Hussein HAMADE**, IGBMC, Strasbourg
2. Matrix metalloproteinase-11, a key factor in cancer cell / adipocyte crosstalk – **Emilie BUACHE**, IGBMC, Strasbourg
3. A novel mechanism of action of RDC11: targeting HIF1 and mTOR pathways – **Vania VIDIMAR**, Inserm U692, Strasbourg
4. Biomechanical remodeling of the microenvironment by stromal caveolin-1 – **Jacky GOETZ**, IGBMC, Strasbourg
5. Tumor necrosis factor Receptor-Associated Factor 4 (TRAF4), a new phosphoinositide binding protein – **Adrien ROUSSEAU**, IGBMC, Strasbourg

Les Partenaires du Forum ont la Parole

(11h50-12h50)

- Session réservée aux biopharmas partenaires : présentation des orientations R&D en cancérologie, des activités sur le Grand-Est et de la stratégie collaborative (académique et clinique)

Cocktail déjeunatoire et session de posters

(12h50-14h20)

En présence des membres du CA du Cancéropôle Grand Est

Immunité et Cancer

(14h20-16h40)

Chairman : Christophe BORG
CHU, Inserm UMR645, EFS – Besançon

- Thérapies cellulaires et immunomoléculaires – **Christophe BORG**, CHU, Inserm UMR645, EFS, Besançon
- Nouvelles approches immunothérapeutiques de la LLC : signalisation par des récepteurs de l'immunité innée – **Marie-Christine BENE**, EA3443, Nancy
- Les infiltrats immunitaires des cancers du sein : des marqueurs pronostiques – **François GHIRINGHELLI**, Centre Georges-François Leclerc, Dijon

Programme du 3 novembre

- Immunothérapie adoptive allogénique du carcinome hépatocellulaire par administration de lymphocytes génétiquement modifiés exprimant un gène de toxicité conditionnelle – **Eric ROBINET**, Institut de Virologie, Inserm U748, Strasbourg
- Applications en pathologie et en clinique de MUC1 comme biomarqueur dans le cancer du sein – **Christian GARBAR**, Institut Jean Godinot, Reims

Communications orales :

1. Rôle antitumoral du granzyme B produit par les neutrophiles – **Cédric SEIGNEZ**, Laboratoire EPHE, Inserm U866 Equipe « NO et cancer », Dijon
2. Immunomodulatory effects of Toll-like receptors engagement on chronic lymphocytic leukemia cells from patients with progressive and stable disease – **Min CHEN**, Laboratoire d'Immunologie, CHU de Nancy & EA 4369 RHEM Nancy Université, Nancy
3. Differential and tumour-Specific Expression of CD160 in B-cell malignancies – **Jérôme GIUSTINIANI**, Laboratoire de Thérapie Cellulaire. Institut Jean Godinot, Reims

Les Prix du Jeune Chercheur

(16h30-16h40)



Clôture du Forum

(à 16h40)



Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS

Comment s'explique l'amélioration du pronostic du cancer colorectal ?

Auteur : Anne-Marie BOUVIER

Inserm U866 / Registre Bourguignon des Cancers Digestifs / CHU, Dijon

E-mail : anne-marie.bouvier@u-bourgogne.fr

Résumé

Contexte : Le cancer colorectal est un problème de santé publique du fait de sa fréquence et de sa gravité. En France, les cancers sont pris en charge par un système de soins très décentralisé, aux lieux de traitements et aux intervenants multiples. Les registres de cancers permettent le recueil de données exhaustives provenant de toutes les filières de soins et représentent l'outil idéal pour évaluer les pratiques médicales.

Objectif : Les données du Registre Bourguignon des cancers digestifs ont montré que la survie relative à 5 ans du cancer colorectal était passée de 33.9% pour la période 1976-1980 à 59.7% pour la période 2001-2005. Le but de ce travail était d'identifier les facteurs associés à l'amélioration du pronostic du cancer colorectal au cours du temps.

Résultats : Le stade diagnostic est le facteur pronostique majeur du cancer colorectal. La proportion de cancer de **stade précoce** (tis et stade TNM I) a augmenté de 12.6% entre 1976-1979 à 26.5% entre 2004-2008. Dans le même temps, la mortalité opératoire associée a diminué de 12.0% à 1.8%. La proportion de cancer de **stade II** n'a pas varié au cours du temps. Si la proportion de résection R0 est restée stable, autour de 97%, la mortalité opératoire associée a diminué de 13.2% à 4.6%. Les progrès thérapeutiques ont été marqués pour les cancers colorectaux de **stade III**, avec une diminution semblable de la mortalité opératoire et un bénéfice apporté par la mise en place de la chimiothérapie adjuvante dont l'efficacité a été démontrée en 1990. En analyse multivariée, après exclusion de la mortalité opératoire et ajustement sur la période diagnostique, elle était un facteur pronostique significatif chez les moins de 75 ans (HR 0.68, [0.52-0.88], p=0.003). Cette association n'était pas retrouvée chez les patients âgés de 75 ans et plus en raison d'une faible proportion de sujets traités. La survie relative à 3 ans des cancers de **stade avancé** s'est améliorée, passant de 6.1% en 1976 à 11.8% en 2007. Depuis 1996 trois générations de chimiothérapies ont été proposées. Au cours de cette période, l'évolution de l'excès de mortalité suggérait que la survie des patients ayant un cancer métastatique a été prolongée mais sans guérison de leur maladie.

Conclusions : L'amélioration du pronostic du CCR est multifactorielle. Les progrès de la prise en charge péri opératoire et l'amélioration des stratégies thérapeutiques (chirurgie, chimiothérapie et radiothérapie) sont des facteurs majeurs qui permettront de diminuer le poids que représente ce cancer. La mise en place d'un dépistage national permettant un diagnostic plus précoce devrait amplifier les progrès actuels.

La plateforme inter-régionale « Qualité de Vie et Cancer » : état des lieux

Auteur(s) : Michel VELTEN¹, Francis GUILLEMIN², Pascal AUQUIER³, Franck BONNETAIN⁴, Mariette MERCIER⁵, Themistoklis APOSTOLIDIS⁶, Christine BINQUET⁷, Damien JOLLY⁸ et Sophie PARNALLAND⁴

¹Service d'épidémiologie et de biostatistique, EA 3430, Centre Paul Strauss et Laboratoire d'épidémiologie et de santé publique, Faculté de Médecine, Strasbourg ; ² CIC-EC Inserm CIE-6, CHU, Nancy ; ³Laboratoire de Santé Publique, EA3279, AP-HM, Marseille ; ⁴Unité de biostatistique et d'épidémiologie, EA 4184, Centre Georges François Leclerc, Dijon ; ⁵ Laboratoire de biostatistique, EA 3181, Faculté de Médecine et Pharmacie et Unité de Recherche Clinique en Cancérologie, CHU, Besançon ; ⁶ Laboratoire de psychologie sociale, EA848, Université d'Aix-en-Provence ; ⁷ Laboratoire de biostatistique, Inserm U-866, Faculté de Médecine et CIC-EC Inserm CIE-1, CHU, Dijon ; ⁸Centre de Recherche, d'Investigation Clinique et d'Aide Méthodologique, CHU, Reims

E-mail : michel.velten@unistra.fr

Résumé

La Qualité de Vie (QdV) relative à la santé est reconnue comme le 2^e critère de jugement en oncologie après la survie globale (ASCO et FDA) et sa mesure constitue un élément précieux dans le cadre du choix des traitements, de la prise en charge et du suivi des patients atteints de cancer.

Depuis 2008, la plate-forme « Qualité de Vie et Cancer » offre une expertise méthodologique et clinique au niveau national pour la mesure et l'analyse de la QdV dans les essais cliniques, les études épidémiologiques et les études médico-économiques. Labellisée par la Ligue Nationale Contre le Cancer et soutenue par l'INCa et les cancéropôles du Grand-Est et de PACA, elle vise à favoriser et à optimiser l'utilisation de la QdV comme critère de jugement en cancérologie.

Cette plate-forme fédère les compétences des spécialistes de la QdV dans le but d'obtenir des évaluations standardisées (reposant sur des résultats robustes, comparables et explicites) et d'apporter des solutions pertinentes dans la prise des décisions médicales et de santé publique.

Cette plate-forme s'est fixé 5 objectifs principaux :

1. Mutualiser et optimiser les compétences et les thématiques de recherche des spécialistes de la QdV ;
2. Développer et proposer un service commun auprès des cliniciens de tous les cancéropôles pour la mise en œuvre et l'analyse d'études de QdV (essais cliniques, études épidémiologiques et médico-économiques) ;
3. Créer une banque d'outils de mesure de QdV et de santé perçue en langue française ;
4. Développer une recherche méthodologique de « transfert » ;
5. Elaborer et mener des études méthodologiques de QdV dans le cadre d'études dédiées.

[Les recherches méthodologiques de la plate-forme s'articulent autour de 5 axes :](#)

Axe 1 : Développement conceptuel et approche qualitative de la QdV

Résumés des interventions

2 novembre

Axe 2 : Validation, sélection et utilisation de questionnaires de QdV

Axe 3 : Analyses longitudinales de la QdV

Axe 4 : Valeur pronostique de la QdV et relation avec les critères cliniques

Axe 5 : Approche médico-économique de la QdV

(Pour plus d'informations : <http://www.cancerpole-ge.org/cgweb/index.php?id=164>)

Projet inter-cancéro-pôles CEOLE : Evaluation et validation d'échelles de qualité de vie en phase palliative avancée chez des patients atteints d'un cancer

Auteur : Anne-Lise SEPTENS-POIRIER

Centre Paul Papin, Angers

E-mail : Anne-Lise.Poirier@ico.unicancer.fr

Résumé

Rationnel : La recherche clinique française en soins palliatifs est confrontée à l'absence de critères de jugement pertinent permettant d'évaluer de manière standardisée l'« état » (outcome) du patient. Les échelles utilisées ne sont pas spécifiquement adaptées à l'évaluation de la qualité de vie (QdV) relative à la santé des patients en fin de vie (fdv). Ainsi toutes les dimensions pertinentes à cette phase de la maladie ne sont pas spécifiquement évaluées. Ceci constitue un frein à l'amélioration d'un accompagnement de qualité. Les dimensions de douleur, de détresse psychologique, de fatigue, de diminution de l'autonomie sont des points essentiels évalués dans les questionnaires usuels et fréquemment utilisés au stade palliatif. Cependant la fdv recouvre également les domaines du spirituel, de l'existentiel et du relationnel. Ces éléments sont primordiaux pour mieux appréhender la QdV en fdv, mais ne sont pas ou peu abordés dans les questionnaires français disponibles.

Méthode : Cette étude observationnelle de cohorte multicentrique doit permettre de valider la traduction française des questionnaires anglo-saxons QUAL-E et Missoula Vitas Quality of Life Index (MVQLI) chez des patients en phase palliative atteint d'un cancer.

Le critère principal retenu pour évaluer le nombre de sujets nécessaires est la reproductibilité en utilisant le Coefficient de Corrélation Intraclasse. L'effectif nécessaire est estimé à 372 patients. La reproductibilité des scores, la sensibilité au changement, la capacité discriminante et la validité convergente seront également analysés.

La traduction des questionnaires a été effectuée dans une étape préliminaire grâce à la plateforme de recherche clinique « Qualité de Vie et Cancer ».

Conclusion : Si la validation culturelle et psychométrique des questionnaires en français est satisfaisante, ces questionnaires pourront être proposés afin de mieux appréhender les domaines très spécifiques à cette étape de la vie.

AlimK : « Essai prospectif multicentrique, contrôlé randomisé, évaluant l'efficacité de la nutrition parentérale sur la qualité de vie et la survie globale chez des patients en phase palliative d'un cancer »

Auteur : Régis AUBRY

Département Douleur / Soins palliatifs, CHU, Besançon

E-mail : raubry@chu-besancon.fr

Résumé

L'objectif principal de cette recherche est d'évaluer l'efficacité de l'instauration d'une nutrition parentérale par rapport à son abstention sur la qualité de vie des patients anorexiques en phase palliative d'un cancer et en l'absence de tout traitement spécifique.

L'objectif secondaire est d'évaluer l'efficacité sur la survie globale, les paramètres nutritionnels, et les aspects médico-économiques des deux modes de nutrition comparés.

Conduire un essai randomisé chez des personnes en situation de soins palliatifs est difficile et délicat pour plusieurs raisons qui seront précisées dans l'exposé.

C'est pourquoi la méthodologie de randomisation choisie correspond à la méthode ZELÉN

Cette méthode propose aux 9 centres investigateurs de randomiser les patients avant d'obtenir leur consentement à participer à l'étude. Une fois la randomisation effectuée, un consentement est secondairement demandé uniquement aux patients du bras traitement expérimental (single-consent-design).

Le bras intervention "à l'étude" correspond à une attitude invasive connue (la nutrition parentérale), qui nécessite déjà une information spécifique et un consentement à obtenir. Le schéma de Zelen appliqué dans notre situation, est dans ce sens, très similaire à la "bonne pratique" qui consiste à informer le patient sur une intervention invasive (qu'il peut refuser) et obtenir son consentement pour la mettre en œuvre.

Les patients inclus dans le bras « non-expérimental » seront informés sur la passation des questionnaires de qualité de vie.

Une étude ancillaire sera menée :

- auprès des investigateurs des services participants afin d'explorer les éléments motivant leur choix de proposer ou non l'étude à un patient éligible.
- Chez les patients du bras à l'étude afin d'explorer leurs motifs d'acceptation et de refus concernant leur participation à une étude proposant l'introduction d'une alimentation artificielle parentérale
- Chez les proches des patients afin d'explorer leur point de vue concernant la décision (acceptation ou refus) des patients de participer à l'étude.

Données agrégées d'incidence du cancer : modèles spatiaux

Auteur : Erik-André SAULEAU

Département de Biostatistiques, Faculté de Médecine, Strasbourg

E-mail : ea.sauleau@unistra.fr

Résumé

Les registres recueillent exhaustivement les nouveaux cas de cancer avec certaines de leurs caractéristiques. Sont adjointes des variables décrivant leur environnement (sociodémographiques mais aussi géographiques, météorologiques, ...). Pour différentes raisons méthodologiques (prise en compte de la population) et éthiques (masquer rigoureusement les identités), les données initiales sont ensuite agrégées par commune de résidence, tranche d'âge et année (ou période) de diagnostic.

Parmi les questions sociétales en suspens figure la détermination de facteurs environnementaux qui pourrait expliquer, au moins en partie, la survenue du cancer. La première étape est de chercher à savoir si la répartition géographique des cas, utilisée comme un reflet des expositions, montre un aspect particulier pouvant orienter la mise en place d'études épidémiologiques ultérieures. Le simple positionnement de la résidence de chaque cas sur une carte ne peut être utilisé à cette fin et on a besoin de modéliser la répartition observée des cas, en tenant compte de certains phénomènes (telle l'autocorrélation spatiale) et de certaines variables (âge, déprivation de la commune de résidence par exemple).

Puisqu'on dispose de données agrégées, la régression de Poisson (avec inférence fréquentiste ou Bayésienne) est un bon candidat. Elle permet la prise en compte des différentes variables selon des modèles, à type de lissage par spline par exemple, très souples et très puissants. De manière plus générale, cette régression entre dans le cadre des « structured additive regressions » ou modèles STAR.

Au sein des modèles STAR l'extension de ces méthodes aux données de mortalité et de survie (avec une interprétation tout à fait différente) est assez directe. Mais si ce type de régression est utilisé de longue date, il reste nombre de questions en suspens, parmi lesquelles les phénomènes de confusion spatiale, de biais écologique ou de défaut d'alignement des données ne sont pas les plus simples à résoudre.

Le burnout des personnels en oncologie : une étude nationale

Auteur : Didier TRUCHOT

Laboratoire de psychologie, Besançon

E-mail : dtruchot@univ-fcomte.fr

Résumé

L'épuisement professionnel ou *burnout* est un syndrome psychologique lié aux stresseurs professionnels. Il est composé de trois dimensions : l'épuisement émotionnel qui réfère au sentiment d'être submergé par les exigences professionnelles et vidé de ses ressources émotionnelles. La *dépersonnalisation* qui consiste à mettre une distance avec les patients en développant des attitudes impersonnelles, détachées, cyniques. Enfin, la *réduction de l'accomplissement personnel* qui renvoie à la tendance à évaluer négativement son travail, le professionnel ne s'attribuant plus aucune capacité à faire avancer les choses. Le burnout a des effets négatifs sur la santé psychologique et physique du soignant, (e.g., états

dysphoriques, conduites addictives), sur la qualité des soins (e.g., diminution de l'empathie et de l'engagement, erreurs médicales), sur le climat organisationnel (e.g., conflits, absentéisme, turnover).

Dans le cadre d'un contrat de recherche INCA, nous avons conduit une recherche au niveau national afin 1) de mesurer l'état des équipes afin de savoir si et dans quelle mesure elles sont affectées par le syndrome de burnout 2) de bâtir une échelle permettant d'évaluer les stresseurs des équipes, 3) d'étudier les efforts et les stratégies développés par les individus pour y faire face, 4) pour à terme créer un 'observatoire' du burnout des équipes d'oncologie.

Dans un premier temps, nous avons conduit 270 entretiens auprès des personnels soignants et non-soignants en contact avec les patients. (Infirmières, médecins, manipulateurs, secrétaires médicales, etc.). L'analyse des entretiens nous avons permis de construire un questionnaire qui a été renseigné par 1885 participants.

Au cours de cette communication, nous exposerons les principaux résultats de cette recherche.

Communication orale

Caractéristiques et déterminants des mélanomes épais : une étude basée sur la population dans l'interrégion Nord-Est

Auteurs : Florent GRANGE¹, Coralie BARBE², François AUBIN³, Sophie DALAC⁴, Florence GRANEL-BROCARD⁵, Daniel LIPSKER⁶, Michel VELTEN⁷, Frédéric TRUCHETET⁸, Catherine MICHEL⁹, Gwendoline ARNOULT², Antoine BUEMI¹⁰, Philippe BERNARD¹, Anne-Sophie WORONOFF¹¹

¹ Dermatologie, CHU de Reims ; ² Centre de Recherche, CHU de Reims ; ³ Dermatologie, CHU de Besançon ; ⁴ Dermatologie, CHU de Dijon ; ⁵ Dermatologie, CHU de Nancy ; ⁶ Dermatologie, CHU de Strasbourg ; ⁷ Registre des Cancers du Bas-Rhin, Strasbourg ; ⁸ Dermatologie, CHR de Thionville ; ⁹ Dermatologie, CH de Mulhouse ; ¹⁰ Registre des Cancers du Haut-Rhin, Mulhouse ; ¹¹ Registre des Tumeurs du Doubs, Besançon

E-mail : cbarbe@chu-reims.fr

Résumé

Introduction : Les mélanomes (M) d'indice de Breslow ≥ 3 mm pèsent lourdement sur la mortalité. Les données permettant d'expliquer le diagnostic tardif de tumeurs visibles sur la peau restent rares. Aucune étude basée sur la population n'a abordé cette question en France. Notre avons étudié les facteurs cliniques et sociodémographiques associés au M épais.

Méthode : Les M incidents de stade I à IIIA diagnostiqués dans 5 régions du NE de la France en 2008 ont été recensés auprès des dermatologues, des 3 Registres du Cancer (67,68,25) et de l'Observatoire du M en Champagne-Ardenne. Les M ≥ 3 mm (groupe « épais ») ont été comparés à des M tirés au sort parmi ceux < 3 mm (groupe « non épais »), pour des données cliniques et sociodémographiques recueillies rétrospectivement auprès des dermatologues ou des médecins généralistes (MG).

Résultats : Sur 896 M, 150 (17%) étaient épais (≥ 3 mm). La présente analyse porte sur 129 M épais et

Résumés des interventions

2 novembre

139 « non épais » (soit 268 questionnaires retournés au 30/5/11). Les M épais étaient plus souvent ulcérés (52 vs 10%, $p<0,001$), nodulaires (46 vs 7%, $p<0,001$), achromiques (31 vs 13%, $p<0,001$), situés aux membres inférieurs ou à l'extrémité cervicocéphalique (61 vs 36%, $p<0,001$) et moins souvent au tronc (26 vs 43%, $p=0,002$). Ils étaient moins souvent diagnostiqués par un dermatologue (27 vs 53%, $p<0,001$) et plus souvent par un MG (60 vs 43%, $p=0,01$). Les dermatologues posaient moins souvent un diagnostic clinique de M d'emblée dans le groupe épais (76 vs 89%, $p=0,01$).

Sur le plan sociodémographique, le groupe « épais » était caractérisé par un âge moyen plus élevé (64 vs 55 ans, $p<0,001$), une proportion supérieure de sujets célibataires, veufs ou séparés (35 vs 22%, $p=0,02$), vivant seuls à leur domicile (29 vs 17%, $p=0,02$) et n'ayant pas le baccalauréat (73 vs 60%, $p=0,03$). Il n'y avait pas de différence concernant le sexe, le domicile (rural/urbain) et le tabagisme.

Discussion : Les M épais touchent des populations vulnérables (sujets âgés, isolés, de niveau d'étude inférieur). Leur diagnostic est parfois difficile (formes nodulaires, achromiques, moins caractéristiques de M cliniquement) et souvent fait tardivement par le MG, au stade de tumeur ulcérée. Paradoxalement, ils siègent souvent sur des zones visibles (extrémité céphalique, membre inférieur). De larges campagnes d'information ciblant mieux les populations à risque de M graves doivent être conduites auprès de la population et des médecins.

Communication orale

Mélanome cutané infiltrant en France : évolution de l'incidence et variations géographiques en fonction des facteurs histopronostiques sur la période 1998-2005

Auteurs : Florence BINDER-FOUCARD^{1, 2}, Anne-Valérie GUIZARD³, Laure COUTARD⁴, Aurélien BELOT^{4, 5}, Anne THURET⁴, Arlette DANZON⁴ et le réseau Français des registres de cancer (Francim)

¹ Registre des cancers du Bas-Rhin, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, FRANCIM Network ; ² Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg ; ³ Registre général des tumeurs du Calvados, Caen, FRANCIM Network ; ⁴ Institut de veille sanitaire, Département des maladies chroniques et des traumatismes, Saint Maurice ; ⁵ Service de biostatistique des Hospices Civils de Lyon, Lyon

E-mail : florence.binder@unistra.fr

Résumé

Contexte : En France l'incidence du mélanome cutané infiltrant (MCI) augmente.

Objectifs : Analyser l'évolution des taux d'incidence des MCI en France entre 1998 et 2005 en fonction de leurs caractéristiques histopronostiques et décrire leurs variations géographiques sur la période la plus récente (2003-2005).

Méthode : Cas incidents de MCI enregistrés entre 1998 et 2005 dans 11 registres français.

Codes de la Classification internationale des maladies pour l'oncologie: C44* et 8720 à 8780,

comportement/3. Les compte-rendus anatomopathologiques ont été relus afin d'enregistrer les données qui n'avaient pas été enregistrées en routine (Breslow, Clark, ulcération). Les taux d'incidence ont été standardisés sur la population mondiale et les taux de variation annuels moyens ont été calculés à l'aide d'un modèle âge-dérive.

Résultats : Entre 1998 et 2005, 8128 cas ont été diagnostiqués. Il existe des différences significatives entre les 2 sexes par topographie, histologie, et épaisseur. L'incidence augmente significativement pour les 2 sexes et cette augmentation reste significative pour le mélanome à extension superficielle. Chez les hommes, on observe aussi une augmentation significative des mélanomes de Dubreuilh et des MCI inclassés.

Pour les 2 sexes, l'incidence des MCI dont l'épaisseur est ≤ 1 mm augmente significativement tandis que celle des MCI dont l'épaisseur ne peut être précisée diminue significativement. Pour la période 2003-2005, la comparaison entre départements montre que les taux les plus élevés sont retrouvés en Alsace, Loire-Atlantique, et Isère. Les taux les plus bas sont retrouvés en Basse-Normandie, Tarn et Somme. La répartition des cas selon l'histologie et l'épaisseur varie entre les départements.

Discussion : Il est difficile d'interpréter l'augmentation d'incidence des MCI ≤ 1 mm car l'incidence des MCI dont l'épaisseur n'est pas précisée diminue. Ces difficultés devraient s'améliorer avec l'amélioration actuelle de la documentation des facteurs histopronostiques des MCI.

Communication orale

Second primary cancer among head and neck cancer survivors

Auteurs : Jérémie JEGU^{1,2}, Florence BINDER-FOUCARD^{1,2}, Michel VELTEN^{1,2,3}

¹ Bas-Rhin Cancer Registry, Department of Epidemiology and Public Health, EA 3430, Faculty of Medicine, University of Strasbourg, Strasbourg ; ² Department of Public Health, University Hospital of Strasbourg, Strasbourg ; ³ Department of Epidemiology and Biostatistics, Paul Strauss Comprehensive Cancer Center, Strasbourg

E-mail : jeremie.jegu@unistra.fr

Résumé

Contexte : The number of people living with a cancer worldwide is increasing. Therefore, more and more cancer survivors face the risk of developing a new primary cancer. In Bas-Rhin, preliminary analyses showed that men with first head and neck cancer are strongly at risk to develop new cancers. Consequently, this study aimed to assess the incidence of second primary cancer among head and neck cancer survivors in Bas-Rhin.

Methods : All men with first primary head and neck cancer (oral cavity and pharynx) diagnosed between 1975 and 2004 in Bas-Rhin were followed until December 31, 2004. Person-years at risk were allocated by age and period of follow-up. The observed to expected ratio (O/E) was calculated by dividing the observed number of first subsequent

primary cancer by the number expected if cancer survivors experienced the same cancer rates as the general population. Excess absolute risk (EAR) and cumulative incidence were also computed.

Results : A total of 5,608 male patients with first head and neck cancer were followed-up for 17,126 person-years. Among them, 1,189 developed a second cancer after first cancer diagnosis. Overall, head and neck cancer survivors had a more than five-time higher risk of developing a new cancer than the general population (O/E=5.43, 95% CI=5.13-5.75). The EAR was of 566 additional cancer cases per 10,000 person-years of follow-up. Dramatic increased risks of second cancer were seen for the following sites: esophagus (O/E=23.57), head and neck (O/E=18.90), lung (O/E=9.84) and liver (O/E=3.75). Nearly 6% of these patients developed a lung cancer by 10 years of follow-up.

Discussion : The increased risk of second primary cancer may result of lifestyle choices, genetics, environmental exposures and late effects of treatments. In Bas-Rhin, head and neck cancer survivors are strikingly at risk to develop new tobacco and alcohol related cancer. Consequently, second cancer prevention strategies should be strengthened among these patients.

Communication orale

Le médecin et le patient face à une décision de limitation ou d'arrêt des thérapeutiques spécifiques d'un cancer en phase avancée

Auteurs : Yvan BEAUSSANT^{1,2,3}, Lionel PAZART², Christophe TOURNIGAND⁴, Florence MATHIEU-NICOT^{2,3,5,6}, Elodie CRETIN^{2,3}, Eric DECONINCK¹, Régis AUBRY^{2,3,5}

¹ Service d'hématologie, CHU de Besançon ; ² Inserm CIT808, CHU de Besançon ; ³ Espace Ethique Bourgogne Franche-Comté ; ⁴ Service d'oncologie - médecine interne, CHU St Antoine, Paris ; ⁵ Département douleur - Soins palliatifs, CHU de Besançon ; ⁶ Département de psychologie de Besançon, Université de Franche-Comté

E-mail : yvan.beaussant@gmail.com

Résumé

Contexte : La décision de limitation ou d'arrêt des thérapeutiques spécifiques (DLAT) chez des patients porteurs d'un cancer en phase avancée est un processus complexe, toujours éprouvant pour les patients, leurs proches et les professionnels. Cette étude explore les déterminants et les modalités des DLAT, et analyse la faisabilité de différentes méthodes d'investigation du processus décisionnel.

Méthode : Etude pilote multicentrique (5 centres) comportant un volet épidémiologique et un volet d'étude qualitative. L'analyse épidémiologique recensait, sur une semaine donnée, les patients porteurs d'un cancer en phase avancée pour qui la question de la DLAT se posait ou s'était posée dans les 15 jours précédant l'enquête. L'analyse qualitative reposait sur des entretiens auprès du médecin référent et du patient (conduits respectivement par un médecin et un psychologue), ainsi que, selon le centre d'étude, des entretiens auprès d'autres acteurs de la situation (soignants, proches), une participation des chercheurs

aux réunions multidisciplinaires et un suivi des changements de la décision sur une période de trois mois.

Résultats : Sur les 839 patients hospitalisés au cours de la semaine d'inclusion, la question d'une DLAT s'est posée dans 3,5% des cas (n=30), et dans 14,3% en secteur conventionnel (n=27 sur 188 patients). Tous les médecins référents et 70% des patients inclus (n=21) ont pu être interrogés en entretiens. Les déterminants subjectifs liés à la relation médecin/patient et à leurs vécus respectifs apparaissent prédominants dans les DLAT. Une analyse en miroir de ces deux points de vue est présentée ici.

Discussion : L'étude pilote Whatelse montre la faisabilité d'une approche qualitative transdisciplinaire des DLAT qui s'avère acceptable pour les médecins et les patients. Elle montre la fréquence de tels questionnements et propose une analyse pertinente pour la compréhension de ces situations peu explorées et souvent mal vécues, où face aux incertitudes, les subjectivités de chacun se rencontrent au cœur d'enjeux éthiques majeurs.

Recherche Translationnelle

Using transcription factors, microtubule associated proteins and ion channels to develop targeted therapies for cancer

Auteurs : Bohdan WASYLYK¹, Kostyantyn SEMENCHENKO¹, Christine WASYLYK¹, Jan BRANTS¹, Alain JUNG², Joseph ABECASSIS², Jack SCHALKEN³, Hermann ROGATSCH⁴, Georg SCHAEFER^{4,5}, Armin PYCHA⁶, and Helmut KLOCKER⁵

¹ Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104 CNRS UDS-U 964 INSERM, 1 Rue Laurent Fries, Illkirch Cedex ; ² Laboratoire de Biologie Tumorale, Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Paul Strauss, 3 Rue de la porte de l'Hôpital, Strasbourg Cedex ; ³ Department of Urology, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands ; ⁴ Department of Pathology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria ; ⁵ Department of Urology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria ; ⁶ Department of Urology, Regional Hospital Bolzano, Bolzano, Italy

E-mail : boh@igbmc.fr

Résumé

In order to develop therapies and identify biomarkers for cancer, we have used a variety of omic approaches on human cancer samples to identify candidates for hypothesis driven functional characterisation and prospective marker validation. In one of these studies, we isolated RNAs that are differentially expressed in macrodissected prostate cancer samples, and selected a novel gene for further study, TTL12, which was predicted to modify tubulins, an established target for tumour therapy. TTL12 is the most poorly characterised member of a recently discovered 14-gene family that catalyses post-translational modification of tubulins (the tubulin code). We found that human TTL12 is expressed in the proliferating

Résumés des interventions

2 novembre

layer of benign prostate and increases during cancer progression to metastasis. It is also highly expressed in invasive fronts and metastases of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). TLL12 could contribute to tumorigenesis through effects on chromosomes. TLL12 colocalises with the mitotic spindle and centrosomes. Overexpression of TLL12 alters chromosomal ploidy, cell cycle progression, mitotic duration, and expression of proteins linked to the cell cycle and chromosome structure (Rb and HP1 α). TLL12 is highly conserved in phylogeny, and has a highly preserved structure. It has both SET-like and TTL-like domains, which are implicated in histone methylation and tubulin tyrosine ligase activity, respectively. Altered expression of TLL12 leads to changes in H4K20 trimethylation and tubulin detyrosination, possibly through indirect mechanisms. Further investigations of TLL12 will lead to insights into microtubule functions, cell response to stress and the development of targeted therapeutics.

Impact of tenascin-C on tumor progression and angiogenesis in the Rip1-Tag2 tumorigenesis model

Auteurs : Falk SAUPE¹, Isabelle GASSER¹, Yundan JIA², Anja HEINKE¹, Martial KAMMERER¹, Thomas HUSSENET¹, Marija MARKO¹, Michael VAN DER HEYDEN¹, Ruslan HLUSHCHUK³, Wentao HUANG², Patricia SIMON-ASSMANN¹, Michèle KEDINGER¹, Valentin DJONOV³, Gerhard CHRISTOFORI² and Gertraud OREND^{1,2}

¹ Inserm, U682, Strasbourg, F-67200 France, University of Strasbourg, UMR-S682, Strasbourg, F-67081 France, CHRU 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 ; * equal contribution

E-mail : fsaube@unistra.fr

Résumé

The tumor microenvironment plays an instrumental role in cancer progression. The extracellular matrix molecule tenascin-C (TNC) is a major component of the cancer specific matrix and is highly expressed in solid tumors. High TNC expression correlates with a bad survival prognosis in several cancers types and is predictive in human breast cancer metastasis to the lung. Although TNC is a well established inducer of cancer progression, it is still not well understood by which molecular mechanisms TNC promotes tumor angiogenesis and metastasis.

Mouse models with gain and loss of TNC function strategies had been established to investigate the role of TNC during tumorigenesis in the Rip1-Tag2 mouse model of insulinoma formation. The impact of TNC on tumor angiogenesis was analyzed in more detail using electron microscopy and three-dimensional fluorescence microscopy. Gene expression profiling was performed to uncover molecular mechanisms of action downstream of TNC.

For the first time it is demonstrated in an immune-competent model of spontaneous tumor formation that

TNC expression levels determine the extent of cell proliferation, tumor angiogenesis, tumor invasion and metastasis. The data obtained in these models showed that TNC had a signaling function and plays an important role in tumor onset and during the angiogenic switch. The implication of the Wnt inhibitor DKK1 provides a mechanistic basis for the described TNC actions. TNC also had a structural function determining tumor vessel architecture and formation of matrix conduits as an additional program to drive tumor malignancy.

Based on the observations, TNC presents an attractive target for blocking tumor angiogenesis and tumor cell dissemination. The presented well characterized tumorigenesis model with different TNC expression could serve as an excellent preclinical model for evaluating the efficacy of drugs targeting TNC and downstream signaling pathways for repressing tumor angiogenesis and metastasis.

Challenges and promises of the multiparametric pharmacoo-imaging in oncology

Auteurs : Olivier DUCHAMP, Xavier TIZON

Oncodesign Biotechnology, Dijon

E-mail : oduchamp@oncodesign.com

Résumé

Scientific background: Following the success of the combined use of computed tomography (CT) and nuclear imaging in the clinic, research is ongoing to increase the quantity and the quality of information provided by one or several imaging techniques. In the context of drug development, when testing drug candidates on laboratory animals, it is useful to simultaneously gather as much data as possible on living animals, to explore the molecular mechanism of action of a drug, understand the macroscopic interactions between the drug, the tumor and its host, or look for a rationale for the choice of the biological active dose, schedule, and combination protocols.

In this talk, examples will be presented on the challenges and promises of multiparametric and multimodal imaging in a pharmacological preclinical context.

Material and Methods: In one study, we used a panel of PET tracers together with functional MRI to follow the effect of surgical castration on prostate cancer tumor models in *Nude* rats. Dynamic and static baseline PET images of tumor-bearing male *Nude* rats were acquired on five consecutive days with each tracer. After baseline imaging, rats were surgically castrated, and thereafter imaged again at two different time points.

In another study, we studied the response of an orthotopic human glioma model to two treatments using multiparametric Magnetic Resonance Imaging (MRI). Tumor-bearing *Nude* rats were treated with either sorafenib or carmustin. The tumor volume, apparent diffusion coefficient (ADC) of water, blood volume fraction (BvF), microvessel diameter (vessel size index, VSI) and vessel wall integrity (contrast enhancement, CE) were monitored before and during treatment.

Results: The multimodal PET/MR study showed a

significant response to androgen ablation therapy using PET imaging with [11C]-Choline and its derivatives in an in vivo model of human hormone-dependent prostate cancer xenografted in *Nude* rats. Additionally, we have shown an excellent correlation of PET data with ADC and MRS parameters as well as immunohistochemistry. The multiparametric MRI study showed that sorafenib reduced tumor CE as early as 1 day after treatment onset. Overall, the estimated MRI parameters were sensitive to treatment at different times after treatment onset and in a treatment-dependent manner. This study suggests that multiparametric MR monitoring could allow the assessment of new anti-tumor drugs and the optimization of combined therapies.

Conclusions: There are two possible strategies to obtain multimodal imaging data: either performing the acquisition of images using hybrid scanners (PET or SPECT/CT for example), or registering the images computationally using advanced image processing techniques. The two approaches require multidisciplinary teams of scientists involving clinicians, biologists, physicists and mathematicians, collaborating with each other on a large scale.

As one possible solution, the combination of PET and MRI in a single imaging system has a very promising potential, combining anatomical, functional, metabolic and multi-parametric imaging. All these technological tools will help better understand the complex nature of cancer in order to provide more efficient treatment.

Optimisation de la distribution de dose en 3 dimensions de la curiethérapie utéro-vaginale à débit pulsé des cancers du col localement avancés

Auteur : Didier PEIFFERT

Centre Alexis Vautrin, Nancy

E-mail : d.peiffert@nancy.unicancer.fr

Résumé

TRIDICOL est une étude prospective multicentrique, nationale de phase II, non randomisée portant sur les cancers invasifs du col utérin traités par curiethérapie associée à la radiothérapie externe. Les objectifs principaux sont d'augmenter la dose délivrée aux volumes cibles (CTV à haut risque devant recevoir 85 à 90 Gy sur 90 % de son volume et CTV à risque intermédiaire devant recevoir 60 Gy sur 90 % de son volume) et d'augmenter le taux de contrôle local à 2 ans de 71 % à 86,7 %.

Les objectifs secondaires sont de maintenir un taux cumulé au cours du temps de grade III et IV en dessous de 6,5 % et d'étudier les relations entre les doses aux CTV et le contrôle local d'une part, et entre les doses aux organes critiques et taux de complications survenant au cours du temps de grade III et IV d'autre part. Les patientes éligibles sont des patientes présentant des tumeurs de stade IB2 à III, de type carcinome épidermoïde ou adénocarcinome ayant un OMS ≤ 2 et pour lesquelles il n'y a pas de chirurgie prévue. Le critère de jugement principal est le taux de contrôle local à 24 mois après la curiethérapie et les critères d'évaluation secondaires sont le temps médian jusqu'à progression, la survie

globale médiane, la réponse tumorale et les toxicités. Le traitement comportera une radiothérapie externe de 45 Gy en 25 fractions plus ou moins associé à une chimiothérapie avec un complément ganglionnaire en cas d'atteinte puis une curiethérapie à bas débit pulsé à la dose de 12 Gy par jour avec une dosimétrie en 3 dimensions si possible réalisée sur IRM. Le suivi sera effectué par examen clinique à 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48 et 60 mois et IRM à 6, 12 et 18 mois. Le nombre de sujets nécessaire est de 48 avec un risque α de 5 % et une puissance de 90 %. La période d'inclusion prévue est de 2 ans. L'analyse de survie sans rechute locale sera réalisée par la méthode de Kaplan-Meier.

La dérégulation de l'ostéogenèse normale conduit au développement des ostéosarcomes pédiatriques

Auteur : Natacha ENTZ-WERLE

Service de Pédiatrie, CHU Strasbourg

E-mail : Natacha.Entz-Werle@chru-strasbourg.fr

Résumé

L'ostéosarcome de haut grade est la tumeur osseuse pédiatrique la plus fréquente. Depuis quelques années malgré les progrès chimiothérapiques, les taux de survie ont atteint un plafond avec une survie globale à 5 ans de 75%. Afin de pouvoir encore améliorer ces résultats de survie, de nombreuses études moléculaires ont été réalisées afin de comprendre la tumorigénèse de ce cancer osseux et de pouvoir mettre en évidence de nouvelles cibles thérapeutiques. Ainsi, en France, des études ancillaires aux protocoles de traitement ont permis de mieux évaluer dans des cohortes homogènes de patients la valeur des anomalies moléculaires identifiées. Comme cette tumeur est définie par la présence d'ostéoblastes malins fabriquant une substance ostéoïde, nous nous sommes focalisés sur la dérégulation des voies de signalisation de l'ostéogenèse normale. Les ostéosarcomes sur le plan moléculaire se caractérisent par la présence de façon extrêmement fréquente de délétions de gènes contrairement à d'autres cancers rendant notamment la recherche d'ouvelles cibles thérapeutiques très complexe. Ainsi, la délétion prédominante de nombreux facteurs de différenciation et du cycle cellulaire a été mise en évidence et ceci de façon particulièrement fréquente pour des gènes comme *TWIST*, *MET*, *APC*, *RB* ou *P53*. D'autres gènes impliqués dans la différenciation de l'ostéoblaste normal mais plus en aval ont également été mis en évidence mais de façon moins fréquente comme *DERM1*, *RUNX3*, *PDGFR*, *SYND2*, les topoisomérases ou encore les *FGFRs*. Par l'analyse statistique de ces données moléculaires comparativement aux données cliniques, des signatures moléculaires caractérisant les patients de mauvais pronostics, la mauvaise réponse à la chimiothérapie ou encore la localisation (membre supérieur versus membre inférieur) ont pu être définies. Basé sur ces mêmes résultats dans les tumeurs humaines, un modèle souris comportant à la fois la délétion des gènes *TWIST* et *APC* a pu également recréer de façon spontanée l'initiation d'ostéosarcomes localisés. De ce fait, la dérégulation de l'ostéogenèse normale va permettre le développement d'ostéosarcomes à des stades de

Résumés des interventions

2 novembre

progression différente et contribuer à l'initiation de l'ostéosarcome de haut grade. La progression de la tumeur sera probablement liée à l'association de cette dérégulation et la présence d'anomalies de l'ostéoclastogenèse localement.

Expression of NK receptors by cutaneous T cell lymphomas. A new hope for targeted therapies.

Auteur : Armand BENSUSSAN

Inserm U976, Skin Research Center, Hôpital Saint Louis, Paris, France.

Institut Jean-Godinot, Reims, France

E-mail : armand.bensussan@inserm.fr

Résumé

We have shown that CD158k/KIR3DL2, an inhibitory NK receptor, is a new phenotypic marker for Sezary cells. This marker is of major help for the identification of Sezary cells in skin and blood and the follow-up of patients under treatment. The CD158k PCR is a new diagnostic and possibly prognostic tool for advanced tumoral and erythrodermic cutaneous T-cell lymphomas. In addition, an antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by NK cells can be triggered against Sezary cells pre-incubated with a low fucosylated chimeric anti-CD158k antibody. Sezary cells also express other types of activatory KIRs and other NK receptors such as NKp46. On Sezary cells, NKp46 triggering inhibits the CD3-induced proliferation. This heterogenous expression of NK receptors in advanced cutaneous T-cell lymphomas suggests a "reprogramming" of neoplastic T lymphocytes towards NK cells. Anti-CD158k monoclonal antibodies could represent a new targeted candidate treatment for patients with advanced stage cutaneous lymphomas. Recent studies show that KIR3DL2 and CpG ODN co-internalize in endosomes where TLR9 is present. This new function of KIR3DL2 is probably implicated in the induction of rapid innate anti-microbial responses. This new function of KIR3DL2 raises new pathophysiologic hypotheses for its role in the proliferation and the apoptosis of Sezary cells.

Communication orale

Identification de biomarqueurs protéomiques prédictifs du carcinome hépatocellulaire chez des patients cirrhotiques

Auteurs : Patrick DUCORROY¹, Caroline TRUNTZER¹, Delphine PECQUEUR¹, Aline JEANNIN¹, Jie LIU¹, Gérard THIEFFIN¹, Patrick HILLON³

¹ CLIPP (Clinical Innovation Proteomic Platform), IFR 100 Santé STIC, Université de Bourgogne, Dijon ; ² Service Hépato-Gastroentérologie, CHU, Reims ; ³ Service Hépato-Gastroentérologie, CHU, Dijon

E-mail : caroline.truntzer@clipproteomic.fr

Résumé

With 6000 new cases in 2000, Hepatocellular Carcinoma (HCC) is the second most frequent digestive cancer after colorectal cancers. HCC is usually a complication of alcoholic, viral or metabolic cirrhosis. At present, there is a lack of

specific and sensitive diagnostic markers as well as of parameters that would allow the evaluation of HCC risks in cirrhotic patients. Thus, it is essential to identify new markers of HCC so as to develop preventive actions for cirrhotic patients. This study intends to identify plasma markers of HCC by mass spectrometry.

At term, this proteomics study will be conducted on 600 plasma samples coming from 200 patients with cirrhosis complicated by HCC and 400 patients with cirrhosis without HCC. Collection of samples is still in progress; at this time, 335 samples were retrieved. Samples were first processed through ProteoMiner to decrease the dynamic range that is to dilute most abundant proteins and concentrate trace ones. The eluates were then purified using C18 magnetic beads, and the purified sample mixed with an HCCA matrix, deposited on a Ground Steel target and acquired with an UltrafleXtreme™ mass spectrometer (Bruker Daltonics). The proteomic profile of each patient resulted in a spectrum in which peaks represent peptides, the relative amount of the peptides being reflected by the height of the peak.

A case/control analysis was then conducted to select significant peaks that discriminate between cirrhotic patients with an HCC complication (137 cases) and without HCC (198 controls). Patients were matched by the inclusion center, the age, the duration of the cirrhosis and the presence of hepatitis C antibodies. To correct the inflated Type I error rate due to multiple testing, p-values were adjusted using the Benjamini-Hochberg correction.

The analysis of these first 335 patients led to the selection of several biomarkers that allow the characterization of cirrhotic patients with and without HCC.

In order to validate this approach, the same study will be conducted on the 600 patients. In parallel, selected biomarkers are trying to be identified. Furthermore, these proteomic biomarkers will be analysed in a combined study using spectroscopic data, as well as environmental, nutritional and metabolomic risks factors collected within the framework of another study (CIRCE).

Communication orale

Notlin-3a abrogates $\alpha 5 \beta 1$ integrin-induced inhibition of p53 pathway in Temozolomide-treated human glioblastoma

Auteurs : Hana JANOUSKOVA¹, Anne MAGLOTT¹, Eric GUERIN², Dominique GUENOT², Sophie PINEL³, Pascal CHASTAGNER³, François PLENAT³, Natacha ENTZ-WERLE⁴, Julien GODET¹, Sophie MARTIN¹ and Monique DONTENWILL¹

¹ CNRS UMR 7213, Université de Strasbourg, Faculté de Pharmacie, Strasbourg ; ² EA4438, Physiopathologie et recherche translationnelle, Université de Strasbourg ; ³ EA 4421, Faculté de Médecine, Nancy ; ⁴ Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Strasbourg

E-mail : hanajanousk@hotmail.com

Résumé

Scientific background: New therapies are urgently needed for glioblastomas (GBM), highly aggressive

brain tumors . Integrins, in particular $\alpha 5\beta 1$ integrin, have been implicated in the resistance to radio-and chemotherapies of solid tumors and appear as therapeutic targets. The aim of our study was to explore the effect of $\alpha 5\beta 1$ integrin expression level on the GBM resistance towards temozolomide (TMZ).

Materials and methods: The $\alpha 5$ integrin subunit was overexpressed or knocked down in human GBM cell lines (U87MG, U373, LNZ308). TMZ sensitivity was determined by clonogenic assays. The p53 pathway was investigated by western blot analysis of p53, pser15 p53 and by qPCR analysis of p53 target genes. In vivo experiments with TMZ were done on human brain biopsy xenografts in nude mice. The expression levels of $\alpha 5$, $\beta 1$, αv , $\beta 3$, $\beta 5$ integrin subunits were analyzed in samples from 95 patients suffering glioma from various grades by qPCR and compared to 20 non tumoral brain tissues. Univariate survival analysis was performed on patients with complete data information.

Results: $\alpha 5\beta 1$ integrin is specifically associated with more aggressive phenotype in brain tumors and with a decreased survival of patients. High $\alpha 5$ integrin subunit expression compromises the Temozolomide-induced tumor suppressor p53 stability and activity in human glioblastoma cells in vitro. In vivo experiments with human brain biopsy xenografts confirmed that high $\alpha 5$ mRNA level is associated with Temozolomide resistance. When p53 is activated with Nutlin-3a, the protective effect of $\alpha 5$ integrin on p53 activation and cell survival is lost. In a functional p53 background, Nutlin-3a downregulates the $\alpha 5$ integrin subunit which led to a more efficient cytotoxic effect of the drug.

Conclusions: We show for the first time the existence of a $\alpha 5\beta 1$ integrin / p53 axis implicated in glioma resistance to Temozolomide. Our results suggest that Nutlin-3a alone or in combination with other therapies may be a therapeutic option in high grade glioma expressing a functional p53 and high $\alpha 5\beta 1$ integrin.

Communication orale

Effet tumoricide photoinduit par le ciblage cellulaire et vasculaire de tumeurs

Auteurs : Julie GARRIER, Aude BRESSENOT, Susanna GRÂFE, Sophie MARCHAL, Soumya MITRA, Thomas H. FOSTER, François GUILLEMIN, Lina BEZDETAYAY

Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN), Nancy-University, CNRS UMR 7039, Centre Alexis Vautrin, Nancy

E-mail : j.garrier@nancy.fnclcc.fr

Résumé

Cette étude vise à évaluer l'efficacité du traitement de tumeurs par thérapie photodynamique (PDT) avec la méta-tetra(hydroxyphenyl)chlorine (mTHPC). Cette molécule est actuellement la plus active sur le marché. Les rapports entre l'efficacité thérapeutique, l'apoptose dans le parenchyme et la vascularisation tumorale ainsi que la biodistribution du photosensibilisateur ont été établis suite à la PDT. Les effets secondaires se manifestant au niveau de la peau ont été évalués.

Des souris porteuses de tumeurs EMT6 (carcinomes mammaires murins) ont été soumises à une irradiation laser à différents intervalles de temps (intervalle drogue-lumière, IDL) après une injection intraveineuse unique (0,3 mg/kg) ou fractionnée (2 x 0,15 mg/kg)

de mTHPC. L'efficacité thérapeutique a été évaluée par le suivi de la croissance tumorale. La biodistribution de la mTHPC a été mesurée par HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Les cellules apoptotiques tumorales ont été mises en évidence avec un nouveau co-marquage immunohistochimique.

Une injection fractionnée de mTHPC a conduit à un taux de guérison de 100%. Ces tumeurs traitées présentaient une apoptose massive des cellules néoplasiques accompagnée d'une destruction des néovaisseaux tumoraux. La meilleure efficacité obtenue suite à une injection unique était de 54% de guérisons avec un IDL de 3h. Les tumeurs présentaient alors une apoptose des cellules endothéliales des néovaisseaux. Les dommages cutanés sont restés superficiels (rougeur) pour une injection fractionnée en comparaison d'une injection unique (forte réaction inflammatoire, nécrose). La biodistribution n'était pas corrélée à l'efficacité de la PDT.

Ainsi, un fractionnement de la dose administrée pourrait considérablement améliorer les protocoles cliniques de traitement par mTHPC-PDT. La mort de la tumeur par apoptose s'accompagne d'effets secondaires restreints. Le choix de l'IDL devrait être basé sur la distribution intratumorale spatio-temporelle de la mTHPC.

Communication orale

Diagnostic de la leucémie lymphoïde chronique sur des frottis sanguins par microspectroscopie Raman et classification supervisée

Auteurs : Teddy HAPPELLON¹, Valérie UNTEREINER¹, Cyril GOBINET¹, Abdellah BELJEBBAR¹, Sylvie DALIPHARD², Pascale CORNILLLET-LEFEVRE², Jacques KLOSSA³, Michel MANFAIT¹

¹ MÉDIAN, CNRS UMR 6237 MEDyC, IFR 53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims ; ² Laboratoire d'hématologie, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, Reims ; ³ TRIBVN, Châtillon

E-mail : teddy.happillon@gmail.com

Résumé

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une maladie cancéreuse du sang, caractérisée par la prolifération de lymphocytes (lymphocytose). Incurable et difficilement décelable, sa découverte se fait souvent de façon fortuite au cours d'une prise de sang.

Afin d'établir le diagnostic de la maladie de manière fiable et automatique, une nouvelle approche basée sur la microspectroscopie Raman (MSR) est introduite dans cette étude. A partir de frottis sanguins non colorés et étalés sur lame de verre provenant de patients sains et atteints d'une LLC, des spectres Raman de globules blancs sont acquis. Ces spectres étant de véritables signatures moléculaires des cellules étudiées, la MSR va permettre d'établir un diagnostic par une procédure en deux étapes.

Tout d'abord, un tri cellulaire est réalisé via un premier modèle spectral, obtenu par la méthode de classification supervisée Séparateurs à Vastes Marges (SVM). Ce modèle, établi à partir d'une population de spectres dits d'entraînement, permet de prédire ensuite en aveugle la catégorie cellulaire de la cellule sur laquelle a été acquis un spectre. Ainsi, seuls les spectres de lymphocytes sont automatiquement

Résumés des interventions

2 novembre

conservés pour la suite de l'étude.

Enfin, la classification SVM a permis de mettre au point un second modèle spectral propre à une discrimination Sain/LLC en considérant un jeu de spectres d'entraînement composé de 6 patients atteints d'une LLC (513 spectres) et 4 individus sains (347 spectres). Par la suite, une classification en aveugle des spectres de 38 patients atteints de LLC (3261 spectres) et 16 individus sains (1386 spectres) a pu être réalisée. Une sensibilité de 84,2% et une spécificité de 87,5% ont été obtenues.

La mise en place de ce nouvel instrument automatisé et les résultats obtenus montrent le potentiel de la MSR pour établir le diagnostic de la LCC. Cette étude a pour perspectives d'être étendue au pronostic de la LLC ainsi qu'à d'autres pathologies cellulaires ou infectieuses.

Infections Virales et Cancers

Roles and regulation of microRNAs in viral infections and cancer

Auteur : Sébastien PFEFFER

IBMC, Strasbourg

E-mail : s.pfeffer@ibmc-cnrs.unistra.fr

Résumé

The importance of non-coding RNAs (ncRNAs), small and large, is growing exponentially in modern biology. Among these ncRNAs, 19 to 30 nucleotides long RNA molecules have recently emerged as critical regulators of gene expression and as part of a defense system against invading nucleic acids. These small RNAs are invariably found at the core of RNA silencing pathways, and serve as guide to target effector complexes to the regulated transcripts. Different classes of small RNAs have been defined based on their origin and properties, and among them micro (mi) RNAs, and small interfering (si) RNAs are the most studied across organisms. Viruses interact extensively with the RNA silencing machinery. Thus in plant and insect organisms, they are directly targeted and degraded in siRNAs by the ribonuclease Dicer or by Dicer-like proteins. The situation is slightly more complicated in mammals, where a more sophisticated innate immune response has replaced this antiviral mechanism. Nevertheless, there are interactions between viruses and mammalian RNA silencing pathways, which mainly involve miRNAs. On one hand, miRNAs of cellular origin can regulate (both positively and negatively) viral RNAs, and on the other hand, some viruses have hijacked the miRNA biogenesis apparatus to express their own miRNAs. I will present our recent work on the roles of virus-encoded miRNAs, as well as the extensive regulation of both viral and cellular miRNAs occurring during viral infections in mammals.

Traitement de l'hépatocarcinome par le virus oncolytique JX-594

Auteur : Jean Marc LIMACHER

Transgene SA, Illkirch

E-mail : limacher@transgene.fr

Résumé

L'usage de virus oncolytiques constitue une nouvelle approche thérapeutique en oncologie. En plus de la lyse des cellules tumorales due à l'infection virale, ces virus peuvent aussi jouer un rôle de vecteur et permettre l'expression de transgènes d'intérêt. Le virus oncolytique JX-594 est un virus de la vaccine de souche Wyeth qui exprime le gène humain du GM-CSF. Son mécanisme d'action est triple : oncolyse virale, stimulation de la réponse immunitaire antitumorale et effondrement de la vascularisation tumorale. La sélectivité de ce virus pour les cellules tumorales est liée à l'inactivation du gène viral codant pour la thymidine kinase qui rend le virus dépendant d'une forte concentration intracellulaire en nucléotides tels que trouvée au sein des cellules tumorales. Les essais cliniques de phase I et II ont montré que ce virus pouvait être administré à la fois par des injections intra-tumorales mais aussi en perfusions intraveineuses. Ces études ont permis de montrer la bonne tolérance du virus et d'établir la dose de 109 pfu comme dose optimale pour les futurs essais cliniques. Les principaux effets indésirables liés à l'administration de JX-594 sont une fièvre et d'autres symptômes grippaux d'intensité mineure à modérée ainsi que des réactions cutanées peu fréquentes. Des réponses objectives ont été mises en évidence dans divers types tumoraux et principalement dans l'hépatocarcinome. Dans un essai de phase II randomisé une amélioration de la survie a été observée chez des patients avec un hépatocarcinome traités par trois administrations intratumorales à dose standard en comparaison de ceux traités à une plus faible dose. Dans un autre essai de phase I la présence du virus dans des tumeurs a pu être mise en évidence par des biopsies effectuées après perfusion intraveineuse. Les essais cliniques en cours évaluent l'intérêt de JX-594 1/ chez des patients souffrant d'hépatocarcinome et réfractaires ou intolérants au sorafenib (phase II randomisée) 2/ chez des patients avec un cancer colorectal ayant échappé à la chimiothérapie standard (Phase I/II randomisée).

Recent advances on the structure of papillomavirus oncoproteins open new research avenues for future therapeutic strategies against cervical cancers

Auteur : Gilles TRAVE

Equipe Oncoprotéines, IREBS, UMR 7242, Ecole Supérieure de Biotechnologie de Strasbourg

E-mail : gilles.trave@unistra.fr

Résumé

Cervical cancer is 100% linked to papillomavirus infection. The two main oncoproteins of human papillomaviruses, called E6 and E7, mainly act by recognizing and often provoking the proteasomal

degradation of a large number of cellular proteins controlling cell proliferation, survival and adhesion.

Our group mainly focuses on the structure-function of E6. Two modes of binding of E6 to its targets have been described. First, E6 has a short unfolded C-terminal motif which allows it to capture PDZ domains, a large family of protein domains often involved in cell junctions and cell adhesion. Second, E6 has a pocket which allows it to capture negatively charged hydrophobic motifs presenting the consensus "LxxLL", and often found in proteins related to transcription control. In particular, E6 recognizes a "LxxLL" motif found in the cellular Ubiquitin Ligase E6AP. The E6-E6AP complex formed in that way captures the p53 tumour suppressor (which is normally NOT a target of E6AP) and catalyzes the poly-ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of p53. In HPV-positive cancer cell lines, formation of the E6-E6AP complex is a prerequisite for degradation of p53. Remarkably, it has been shown in several ways that preventing E6-mediated p53 degradation in HPV positive tumour cell lines (Hela, Caski, SiHa...) provokes cell growth arrest followed by apoptosis or senescence of the tumour cells.

In my talk, I will describe novel structural data obtained by our group in collaboration with NMR and X-ray structure teams of the IGBMC (B. Kieffer, J. Cavarelli). These data describe the E6-PDZ and E6-LxxLL interactions. I will discuss the biological implications of these data as well as the novel avenues they open for the search of inhibitors of the oncogenic properties of Human Papillomaviruses.

START-HPV: French HPV-based primary screening pilot program for cervical cancer

Auteurs : Véronique DALSTEIN^{1,2}, Elisabeth ROUSSELOT-MARCHE³, Emile MEREBA⁴, Olivier GRAESSLIN⁵, Didier FABRE⁶, Jean BOTOKEKY³, Béatrice CHARLIER³, Nicolas JOVENIN², Philippe BIREMBAUT^{1,2}, Christine CLAVEL^{1,2} and the START-HPV Study Group

¹ CHU de Reims, Laboratoire Pol Bouin : Histologie - Cytologie - Biologie Cellulaire, Reims ; ² INSERM UMR-S 903, Reims ; ³ SAC08 (Société Ardennaise de Cancérologie), Charleville ; ⁴ CH de Charleville-Mézières, Service de Gynécologie Obstétrique, Charleville ; ⁵ CHU de Reims, Service de Gynécologie Obstétrique, Reims ; ⁶ CH de Sedan, Service de Gynécologie Obstétrique, Sedan ; ⁷ ONCOCHA, Réseau Régional de Cancérologie de Champagne-Ardenne, Reims.

E-mail : vdalstein@chu-reims.fr

Résumé

Background: New cervical screening algorithms need to be tested in the real life before implementation as national screening programs. The INCa (French National Institute of Cancer) is supporting the first French primary screening pilot study using solely HPV testing for 31-65 year-old women and cytology for 25-30 year-old women, referred to as **START-HPV** (**ST**udy of primary screening in the **AR**dennes department by **T**esting for **HPV** infection).

Objectives: The START-HPV program primarily aims to

evaluate the general conditions of the setting of an HPV-based screening program for women aged >30 yrs. Secondary objectives are: (i) to organize cytology-based screening for women aged 25-30 according to the current guidelines; (ii) to evaluate the feasibility of a distinct screening strategy according to age; (iii) to evaluate the compliance for an extended screening interval (3 to 5 yrs) between 2 negative HPV tests.

Methods: 50,000 women aged 25-65 years leaving in the Ardennes Department, who did not get a Pap smear since more than 3 years, will be invited to participate in the screening program by mail. Non-responders will receive a second and third invitation. At the third invitation, an auto-sampling device will be proposed for HPV testing. Women aged 25-30 yrs will be screened using cytological testing. Women aged 31-65 years will be screened using solely HPV testing (Hybrid Capture 2[®] technique).

Cytology positive women will be managed according to the French national guidelines. HPV+ women will be triaged by cytology. Women with normal or negative tests will be asked to have a further screening round in 3 or 5 years, according to the primary screening test, cytology or HPV respectively.

Conclusion: The detailed methodology of the study will be presented. The START-HPV pilot study will provide a considerable amount of data concerning the organization, the management of HPV+ women and the education and feedback of physicians and population. These data will serve for the guidance of further implementation of large-scale HPV-based screening programs.

Communication orale

Les Papillomavirus Humains (HPV) dans la carcinogénèse du cancer du canal anal : à propos de 87 cas

Auteurs : Séverine VALMARRY-DEGANO, Elise JACQUIN, Monique GUYOT, Benoît GIRARDO, Evelyne CHEZY ; Bernadette KANTELIP, Jean-Luc PRETET, Christiane MOUGIN.

EA3181EA3181 « Carcinogénèse épithéliale » - IFR 133 « IBCT » - UFR SMP, Besançon

E-mail : deganovalmary@gmail.com

Résumé

Nous avons étudié, dans 87 carcinomes du canal anal, les types d'HPV en cause, le statut physique du génome d'HPV16 (charge virale et intégration) et l'expression de p16, p53 et p21, pour déterminer si l'oncogénèse anale associée à HPV est similaire à celle décrite dans le cancer du col utérin.

Il s'agissait de 90% de carcinomes épidermoïdes et 10% d'adénocarcinomes. Le génotypage HPV a été réalisé par INNO-LiPA. La charge virale HPV16 a été déterminée par qPCR E6 HPV16 et qPCR albumine. L'intégration d'HPV16 a été quantifiée par qPCR en ciblant les gènes E6 et E2 d'HPV16, le ratio E2/E6 étant un reflet de l'intégration du génome viral.

Sur les 87 cas testés en INNO-LiPA, 7 étaient ininterprétables, 2 étaient négatifs, 78 étaient HPV+ : 72 HPV16, 1 HPV18, 4 HPV haut risque (HPV-HR) autres que 16 ou 18 et 1 HPV bas risque (HPV6). En

qPCR, 88,5% des cas étaient HPV16+ dont 55 avec un nombre de copies d'E6 supérieur au seuil de quantification. Les charges virales allaient de 2.10^3 à 15.10^6 copies/ 10^3 cellules. Le génome d'HPV16 se présentait sous forme uniquement intégrée dans 4 cas (E2/E6 = 0), épisomale dans 12 cas (E6/E2 \geq 0,8) et mixte dans 39 cas (0 < E2/E6 < 0,8). L'immunohistochimie fut réalisée sur 79 cas dont 70 HPV+. La protéine p16 était exprimée dans 63/70 cas. La protéine p53 était totalement absente dans 27 cas, hétérogène dans 32 et surexprimée dans 11. Toujours parmi les 70 cas HPV16+, la protéine p21 est absente dans 14 cas, hétérogène dans 39 et surexprimée dans 17. Enfin, sur les 70 cas HPV16+, l'index de prolifération est très élevé (\geq 70%) dans la grande majorité des cas (51/70).

Ce travail confirme la forte prévalence d'HPV16 dans le cancer du canal anal, conforté par une expression de p16, et une charge virale élevée, comme dans les cancers du col utérin. Par contre, HPV16 sous forme intégrée pure reste minoritaire (5%). L'expression de p53 et p21 est dépendante de chaque tumeur. L'analyse bio-clinique est en cours.

Communication orale

Adenovirus-mediated RNA interference as new therapeutic tool against cervical cancer

Auteurs : Anaëlle BONETTA, Francois DERYCKERE

UMR 7242 Biotechnologie et signalisation cellulaire, Département intégrité du génome, Equipe Oncoprotéines, Strasbourg

E-mail : anaelle.bonetta@unistra.fr

Résumé

Cervical cancer is the second most common cancer in women and in most cases it is subsequent of an infection by a DNA virus, high risk human papillomavirus (like HPV16 and 18). Transformation of infected cells is due to expression of two viral oncoproteins E6 and E7, interfering with tumor suppressors p53 and pRb, thus deregulating the cell cycle. In fact, E6, with the help of the cellular protein E6AP, induces polyubiquitination of p53 and its degradation by the 26S proteasome.

Inhibition of those two proteins is a very promising therapeutical approach. Indeed reestablishment of p53 and pRb normal expression levels in cancerous cells could lead them to apoptosis. This might be triggered by RNA interference allowing to silence expression of a precise protein with high selectivity. The main difficulty in this approach is the delivery of interfering RNA into cells. To bypass this problem, we used non-replicative adenovirus type 5 vectors, the most often used vectors in clinical trials (24%). Thus we designed recombinant adenoviruses allowing expression of a bicistronic messenger coding for a reporter gene EmGFP and an miRNA directed against E6, responsible for p53 degradation.

The produced recombinant adenoviruses were transduced into three different cell lines : HeLa (HPV 18), SiHa (HPV 16) and CasKi (HPV 16). Thereafter the expression of messenger RNAs and proteins were monitored, and the cell cycle analysed. Our results demonstrated efficient knockdown of E6 messenger RNA, reestablishment of p53 expression levels and

apoptosis. Further *in vivo* analysis in mouse models are currently under investigation and the first outcomes are encouraging.

In conclusion, recombinant adenoviruses ensure efficient miRNA expression into cells, and resulting in cell death in HPV16 or HPV18 cells. In the next steps, other modifications are planned to enhance efficiency and specificity.

« Omiques » Fonctionnelles des Cancers

Récepteurs nicotiques et cancers broncho-pulmonaires

Auteur : Jean-Marie TOURNIER

INSERM UMRS-903, Reims

E-mail : jm.tournier@univ-reims.fr

Résumé

Les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine (nAChRs) sont des récepteurs ionotropes, perméables à différents cations en réponse à une stimulation par l'acétylcholine endogène ou la nicotine. L'entrée de Ca^{2+} , en particulier à travers les nAChRs $\alpha 7$ et $\alpha 3\alpha 5\beta 2$, conduit à l'activation de nombreuses voies de signalisation impliquées dans la régulation de la prolifération et la migration cellulaires, l'apoptose et l'angiogénèse. Les nAChRs $\alpha 7$ et $\alpha 3\alpha 5\beta 2$ sont impliqués dans la régénération de l'épithélium respiratoire en régulant la prolifération, la différenciation et la migration cellulaires. Dans les cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules (adénocarcinomes et carcinomes épidermoïdes), le nAChR $\alpha 7$ est exprimé majoritairement par les cellules tumorales différenciées situées au cœur des massifs tumoraux et présentant un taux de prolifération faible. Cependant, le nAChR $\alpha 7$ est parfois retrouvé aux fronts d'invasion des carcinomes peu différenciés. A l'inverse, le nAChR $\alpha 3\alpha 5\beta 2$ est toujours observé aux fronts d'invasion des massifs tumoraux, quel que soit le type de cancer.

Dans les cultures primaires de cellules tumorales ou de cellules bronchiques normales, le nAChR $\alpha 7$ joue un rôle de répresseur de la prolifération cellulaire dans la majorité des tumeurs bien différenciées et des tissus bronchiques sains, alors qu'il favorise la prolifération cellulaire des tumeurs peu différenciées en réponse à la nicotine. A l'inverse, les nAChRs hétéro-pentamériques ne semblent pas être impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire normale ou tumorale. Par ailleurs, l'invasion *in vitro* des cellules tumorales est partiellement inhibée par des antagonistes des nAChRs $\alpha 7$ et $\alpha 3\alpha 5\beta 2$. Nos résultats suggèrent que les nAChRs sont une cible thérapeutique potentielle pour restreindre la progression des cancers broncho-pulmonaires.

A Cytoplasmic Isoform of ATF7 transcription factor Impairs both ATF7 and ATF2 Phosphorylation and Transcriptional Activities

Auteur : Bruno CHATTON

UMR7242 Université de Strasbourg

E-mail : bchatton@unistra.fr

Résumé

The nuclear ATF7 and ATF2 (activating transcription factor) are structurally homologous leucine zipper transcription factors encoded by distinct genes. Stress and growth factors activate ATF2 and ATF7 mainly via sequential phosphorylation of two conserved threonine

residues in their activation domain. Distinct protein kinases, among which mitogen-activated protein kinases (MAPK), phosphorylate ATF2 and ATF7 first on Thr71/Thr53 and next on Thr69/Thr51 residues respectively, resulting in transcriptional activation.

In addition to its role as a transcription factor, ATF2 functions in the DNA damage response and in control of HAT complex activity. So far genetic changes in ATF2 have not been identified in human tumors. Yet altered expression and subcellular localization of ATF2 are associated with tumor stage and prognosis. Studies in melanoma tumor models identified oncogenic ATF2 activity correlating with development of this tumor type. Inhibiting ATF2 suffices to impede melanoma development. Ongoing work in other tumor models, including breast and skin tumors reveals that ATF2, in cooperation with mutated oncogenes or tumor suppressor genes, can also elicit tumor suppressor function.

We have recently identified and characterized a cytoplasmic alternatively spliced isoform of ATF7. This variant, named ATF7-4, inhibits both ATF2 and ATF7 transcriptional activities by impairing the first phosphorylation event on Thr71/Thr53 residues. ATF7-4 indeed sequesters the Thr53-phosphorylating kinase in the cytoplasm. Upon stimulus-induced phosphorylation, ATF7-4 is poly-ubiquitinated and degraded, enabling the release of the kinase and ATF7/ATF2 activation. Our data therefore conclusively establish that ATF7-4 is a very important regulator of both ATF7 and ATF2 transcription factors activities.

Elastokines et progression tumorale

Auteurs : Laurent DUCA¹, Anthony RUSCIANI¹, Jérôme DEVY¹, Amandine SCANDOLERA¹, Bertrand BRASSART¹, Charlotte BLANCHEVOYE¹, Aurore CHATRON-COLLIET², Benoit CANTARELLI¹, Hervé SARTELET¹, Sébastien BLAISE¹, Jessica THEVENARD¹, Nicolas FLOQUET³, Stéphanie BAUDI¹, Sylvie PASCO-BRASSART³, Jean-Claude MONBOISSE³, Georges BELLON³, William HORNEBECK³, Richard LE NAOUR⁴, Michel TARPIN¹, Hélène BOBICHON², Dominique PLOTON², Manuel DAUCHEZ¹, Laurent MARTINY¹ et Laurent DEBELLE¹

¹ UMR CNRS 6237 MEDyC, Laboratoire Signalisation et Récepteurs Matriciels (SiRma), IFR53, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Université de Reims Champagne Ardenne (URCA) ; ² UMR CNRS 6237 MEDyC, Laboratoire Médicament, Dynamique Intracellulaire, Architecture Nucléaire (MÉDIAN), IFR53, UFR Pharmacie, URCA ; ³ UMR CNRS 6237 MEDyC, Laboratoire de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, IFR53, UFR Médecine, Université de Reims Champagne Ardenne ; ⁴ EA 4303 Inflammation et Immunité de l'appareil respiratoire, IFR53, UFR Pharmacie, URCA ; ⁵ Institut des BioMolécules Max Mousseron (I.B.M.M.), UMR CNRS 5247, Faculté de Pharmacie, Montpellier.

E-mail : laurent.duca@univ-reims.fr

Résumé

L'élastine est le polymère de la matrice extracellulaire responsable de la résilience des tissus tels que la peau ou les poumons. Sa dégradation produit des peptides doués d'activités biologiques capables d'influencer

diverses fonctions biologiques en lien avec le développement tumoral tant du point de vue de la réaction stromale (fibroblastes, cellules endothéliales et monocytes/macrophages) que de la tumeur elle-même. Ces peptides régulent ainsi la prolifération cellulaire, l'invasion au travers de la sécrétion de protéases matricielles mais aussi l'angiogénèse. Parmi les peptides générés, nous avons montré que seuls les peptides possédant le motif GXXPG sont bioactifs grâce à leur conformation en coude β de type VIII. Cette structure se fixe sur un récepteur singulier, hétérotrimérique, constitué d'une sous-unité liant les peptides d'élastine, nommée EBP, et de deux sous-unités associées à la membrane, nommées PPCA et Neu-1. Nous avons réalisé un modèle par homologie de la sous-unité EBP qui nous a permis de mieux comprendre la liaison des peptides. Les voies de signalisation induites par le récepteur ont mis à jour un modèle particulier de signalisation reposant sur l'activité sialidase de sa sous-unité Neu-1. Dans celui-ci, Neu-1 convertit, au sein des radeaux lipidiques, le ganglioside GM₃ en lactosylcéramide et acide sialique qui sont alors responsables de la signalisation en aval du récepteur et de ses effets pro-tumoraux passant par l'induction des voies ERK1/2 et PI3K/Akt. L'effet pro-tumoral des PE est retrouvé *in vivo* dans un modèle murin de mélanomes. Les PE sont ainsi capables de stimuler la croissance de la tumeur mais aussi de faciliter l'invasion des cellules tumorales en augmentant la sécrétion de MMP-1 conduisant à une collagénolyse importante.

La connaissance des mécanismes de transduction induits par les PE via leur récepteur pourrait permettre le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques visant à limiter et/ou bloquer la contribution de l'élastolyse dans la progression des tumeurs au travers de la limitation de la collagénolyse.

Rôle de l'ubiquitine hydrolase USP22 dans le remodelage de la chromatine

Auteurs : Didier DEVYS, Jacques BONNET, Guillaume LANG, Laszlo TORA

Département Génétique Fonctionnelle et Cancer, IGBMC, Strasbourg

E-mail : devys@igbmc.fr

Résumé

L'ubiquitination des histones est une modification épigénétique majeure de la chromatine qui a été récemment impliquée dans le contrôle de l'activité transcriptionnelle de gènes associés à de nombreux processus cellulaires tels que la prolifération, la croissance et la différenciation. Aussi, il est de plus en plus admis que cette modification joue un rôle clef dans les mécanismes régulant les processus pathogéniques lors des transformations malignes. La récente identification de l'histone ubiquitine hydrolase USP22 comme une signature de cellules souches cancéreuses, avec deux autres histones ubiquitine E3 ligases, BMI-1 et RNF2/Ring1b, a permis de lier les enzymes impliquées dans l'ubiquitination et la déubiquitination des histones avec la transformation cellulaire et le développement de métastases. Nous avons montré qu'USP22 est une sous-unité du complexe co-activateur SAGA qui possède également

une activité d'acétylation des histones et que son activité est régulée par d'autres sous-unités du complexe. Afin de comprendre comment une dérégulation du niveau d'ubiquitination des histones pourrait jouer un rôle dans la prolifération tumorale, nous cherchons à identifier le rôle de l'activité de déubiquitination des histones de SAGA sur la régulation de l'expression des gènes et la compaction de la chromatine.

France Génomique : un investissement d'avenir dans la recherche génomique

Auteur : Irwin DAVIDSON

Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), 67404 Illkirch

E-mail : irwin@igbmc.fr

Résumé

Les nouvelles techniques de séquençage d'ADN à haut débit ouvrent de nouvelles possibilités dans la recherche et la diagnostic dans les domaines des maladies génétiques et en oncologie. Néanmoins, ces techniques nécessitent des investissements importants en équipement et en expertise bioinformatique qui ne sont souvent pas à la portée des équipes et des centres non-spécialistes. Afin de rendre ces approches accessibles au plus grand nombre d'équipes, le projet France Génomique a été financé dans le cadre des investissements d'avenir. France Génomique comporte les deux grands centres parisiens (CNS/CNG) dont l'activité se focalisera sur les grands projets, et un réseau national de 7 centres ouverts aux projets de tailles plus modestes. Notre objectif est de faciliter l'accès aux laboratoires à l'expertise nécessaire dans la planification des expériences, la construction de librairies et à la gestion et interprétation des données ainsi que la diffusion de ces expertises auprès de la communauté. Les projets soumis à France Génomique seront dirigés vers les centres spécialisés dans chaque application afin d'assurer un traitement rapide et le meilleur suivi des projets. La mise en route de France Génomique dans les semaines qui viennent devrait ouvrir de nouvelles perspectives à toutes les équipes de recherche souhaitant utiliser des applications basées sur le séquençage haut débit de l'ADN.

L'Institut Clinique de la Souris (ICS) ou la Phénogénomique murine au service de toute la communauté scientifique

Auteurs : Marie Christine BIRLING, Andrée DIERICH, Sylvie JACQUOT, Dalila ALI-HADJI, Philippe ANDRE, Philippe CHARLES, Marie-France CHAMPY, Hamid MEZIANE, Roy COMBE, Olivia WENDLING, Elodie BEDU, Monika JAGLA-EBERLIN, Benoît PETIT-DEMOULIÈRE, Mohammed SELLOUM, Laurent VASSEUR, Djaouida CHEBBOUB, Isabelle GONCALVES DA CRUZ, Abdelkader AYADI, Guillaume PAVLOVIC, Tania SORG and Yann HERAULT

ICS, 1 rue Laurent Fries, 67404 Illkirch

E-mail : herault@igbmc.fr

Résumé

Avec une génétique qui a débuté au début du 20ème siècle par l'établissement des premières lignées consanguines, et qui s'est renforcée par la manipulation des cellules embryonnaires souches et le ciblage génique dans les années 1990, (Prix Nobel en 2007), la souris s'est imposée, incontournable dans le processus de recherche de la biologie contemporaine. Avec des centres entièrement dédiés à cet organisme modèle, elle permet d'aborder au moins 3 enjeux principaux de la génomique fonctionnelle 1) Améliorer notre connaissance du génome : la fonction des gènes dans les processus intégrés (développement, fonctions physiologiques, vieillissement ...) et les fonctions des régions non-codantes, conservées et/ou transcrites; 2) Identifier et comprendre les variations du génome à l'origine des maladies; 3) Proposer de nouvelles perspectives pour la société en recherche fondamentale, translationnelle, préclinique pour l'innovation et le développement de thérapies, de médicaments.

L'ICS a été créée en 2002 par le Professeur Pierre Chambon dans le but de proposer un outil haut débit et performant pour la génération et l'étude fonctionnelle, le phénotypage, de ces souris génétiquement modifiées. Au fil des années les principales missions de l'ICS, comme infrastructure de service, sont devenues: 1) D'être une plateforme de services pour la recherche combinant la capacité de générer, sur une grande échelle, des mutations ciblées chez la souris avec l'analyse phénotypique complète à haut débit de la souris dans le but de faciliter la création, l'analyse et l'utilisation du modèle de la souris; 2) D'entretenir une expertise pertinente à la fois dans la recherche interne et les programmes de développement pour appuyer les activités de l'ICS dans le domaine de la mutagenèse, transgénèse, le phénotypage, la bioinformatique et l'analyse des données; 3) D'être un centre de référence dans le domaine de la génomique fonctionnelle de la souris et de la recherche translationnelle; 4) De promouvoir la meilleure formation à la fois en interne et pour les utilisateurs afin de garantir la procédure la plus efficace dans le respect de l'éthique et du bien-être des animaux.

L'ICS est ainsi capable de gérer et réaliser chacune des étapes clés d'un projet allant de la génération de souris génétiquement modifiées, leur maintien et amplification en animalerie, leur phénotypage et leur distribution. Elle peut également conduire des études précliniques pour la validation de cibles thérapeutiques, les tests de molécules et la détermination de leurs effets principales, secondaires ou l'interférence avec d'autres fonctions; des étapes-clé de la démarche pharmaceutique.

Depuis son ouverture l'ICS a contribué à la région de plus de 1000 modèles souris et plus de 800 projets de phénotypage pour les secteurs académiques ou privés. Depuis cette année elle a rejoint l'initiative PHENOMIN, lauréat des infrastructures nationales en Santé et Biologie dans le cadre des investissements d'avenir en 2011. Avec ces deux partenaires, l'ICS entre dans une nouvelle perspective et va renforcer son positionnement en Phénotypage chez la souris. Elle contribuera notamment à l'initiative internationale du consortium de Phénotypage (IMPC, <http://www.mousephenotype.org/>) afin de créer la première encyclopédie de la fonction des gènes chez un mammifère.

Communication orale

Analyse des voies de signalisation dans un modèle de progression tumorale associé à une inflammation dans l'intestin

Auteurs : Hussein HAMADE, Adèle DE ARCANGELIS, Stéphanie SIEBERT, Sylvie ROBINE, Elisabeth GEORGES-LABOUESSE

IGBMC, Strasbourg

Collaborateurs : Fabien ALPY, Olivier LEFEBVRE, Agnès MECHINE-NEUVILLE, Michèle KEDINGER, Patricia SIMON-ASSMANN

E-mail : hamade@igbmc.fr

Résumé

Les récepteurs de la famille des intégrines sont les principaux médiateurs de l'interaction entre les cellules et leur microenvironnement, en particulier la matrice extracellulaire. Dans le but de déterminer le rôle de l'un de ces récepteurs l'intégrine $\alpha 6 \beta 4$, dans le maintien et l'homéostasie de l'épithélium intestinal, notre équipe a produit un modèle de souris Knockout conditionnel spécifiquement dans l'épithélium intestinal. De manière intéressante, nous observons chez nos souris mutantes un détachement des cellules épithéliales de la membrane basale, suivi d'une inflammation chronique de la muqueuse intestinale et finalement l'apparition d'adénocarcinomes au niveau du colon distal et du rectum.

Ce modèle représente un modèle unique de carcinogénèse colorectale spontanée développée sur inflammation, très proche de la progression tumorale observée chez certains patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Notre projet consiste à caractériser au niveau cellulaire et moléculaire les différentes étapes conduisant de l'inflammation chronique au développement d'adénocarcinomes. Plusieurs approches sont utilisées telles que des analyses de transcriptome et du génome aux différents stades, ainsi que des analyses biochimiques et histologiques.

Nous focalisons nos recherches sur les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la transformation cellulaire et les liens possibles avec des voies connues pour leur implication dans le cancer colorectal telles que la voie des MAPK et les voies Wnt.

Communication orale

Matrix metalloproteinase-11, a key factor in cancer cell / adipocyte crosstalk

Auteurs : Emilie BUACHE, Fabien ALPY, Catherine TOMASETTO, Marie-Christine RIO

IGBMC, Equipe de Biologie Moléculaire et Cellulaire des Cancers du Sein, Strasbourg

E-mail : buache@igbmc.fr

Résumé

High matrix metalloproteinase 11 (MMP11, also called Stromelysin-3)) expression in primary tumors is associated with cancer aggressiveness as well as with poor patient clinical outcome. Mouse tumor models show that MMP11 acts very early subsequent to cancer cell invasion. The invasive processes lead to the

proximity of cancer cells and cells of mesenchymal origin. In this context, most studies focusing on cancer cell-connective cell interactions have emphasized the role of fibroblasts, endothelial and inflammatory cells in fully-constituted tumor stroma that contains very few, if any, adipocytes. We have demonstrated the MMP11 involvement in cancer cell-adipocyte cross-talk. We showed that cancer cells induce MMP11 expression by adjacent adipocytes/pre-adipocytes at the human breast tumor invasive front.

These data point to the essential role of adipocytes in invasive steps and highlights the MMP11 participation. The origin of peritumoral fibroblasts, known to favor tumor progression, remains debated. Our results support the concept that pioneer invading cancer cells that induce the MMP11 production by proximal adipocytes/preadipocytes, initiate a vicious cycle leading to a default of adipocyte differentiation and the accumulation of peritumoral fibroblast-like cells. Accordingly, recombinant MMP11 reverts chemically-induced adipocyte differentiation of MMP11-deficient mouse embryonic fibroblasts. Finally, MMP11 exhibits collagenolytic activity against the native alpha 3 chain of collagen VI, a collagen required for correct fat tissue cohesion and adipocyte function. Interestingly, collagen VI has been reported to be involved in breast cancers.

Collectively, our data constitute the first evidence implicating an MMP in cancer cell-adipocyte cross-talk, and are of particular interest since epidemiological studies identify obesity as a major risk and/or a poor prognosis factor for cancer.

Communication orale

A novel mechanism of action of RDC11: targeting HIF1 and mTOR pathways

Auteurs : Vania VIDIMAR, Dominique GUENOT, Michel PFEFFER, Gianni SAVA, Jean-Philippe LOEFFLER, Christian GAIDDON

Inserm U692, Strasbourg

E-mail : vania.vidimar@etu.unistra.fr

Résumé

Platinum-based compounds are still widely used as anticancer drugs worldwide, despite severe side effects and drug-resistance phenomena. In recent years, a class of platinum-free metal-based compounds was developed to overcome this issue. Among these, the ruthenium-derived compound RDC11 showed promising anticancer properties *in vivo*. Moreover, the lack of a strict correlation between the interaction with DNA and its cytotoxic activity suggested alternative modes of action. Interestingly, *affimatrix* microarray analysis performed in our lab showed that RDC11 altered the transcriptional activation of different genes of mTOR and HIF1 signaling, two of the most relevant pathways for cancer cell viability. mTOR controls cell growth by regulating protein synthesis and autophagy. HIF1 is stabilized in response to hypoxic stress and involved in cell survival and angiogenesis. Both proteins are usually overexpressed in cancer. Targeting HIF1 and mTOR could thus represent a mechanism of selective cytotoxicity against cancer cells. Western blot analysis showed that RDC11 was able to decrease HIF1 α protein levels in hypoxic conditions and also to modulate the expression of HIF1 β and PS6 kinase,

which are two proteins of the HIF1 and mTOR pathways respectively. Moreover, RT-qPCR showed that RDC11 treatment decreased the expression levels of different HIF1 α target genes (GLUT1, VEGF, ENO1), as well as HIF1 α and HIF1 β genes in both normoxia and hypoxia. RDC11 also repressed the expression of RAPTOR and RICTOR, two components of the mTOR complex. In summary, these results indicate that RDC11 downregulates the activity of the mTOR and HIF1 pathways, a unique characteristic for a metal-based anticancer compound. The identification of these intracellular targets paves the way for selective optimization of RDC11, potentially leading to a targeted therapy, the main challenge of cancer chemotherapy today.

Communication orale

Biomechanical remodeling of the microenvironment by stromal caveolin-1

Auteurs : Jacky G. GOETZ¹, Susana MINGUET¹, Inmaculada NAVARRO-LÉRIDA¹, Juan José LAZCANO¹, Rafael SAMANIEGO², Enrique CALVO⁴, Marta TELLO³, Teresa OSTESO-IBÁÑEZ¹, Teijo PELLINEN¹, Asier ECHARRI¹, Ana CERREZO¹, Andres J.P. KLEIN-SZANTO⁶, Ricardo GARCIA³, Patricia J. KEELY⁵, Paloma Sánchez-Mateos², Edna CUKIERMAN⁶, Miguel A. Del POZO¹

¹ IGBMC, Strasbourg; ² CNIC, Madrid, Spain; ³ Instituto de Microelectrónica de Madrid, Spain

E-mail : jgoetz@igbmc.fr

Résumé

Mechanotransduction, a key determinant of tissue homeostasis and tumor progression, is driven by intercellular adhesions, cell contractility and forces generated with the microenvironment, dependent on extracellular matrix composition, organization and compliance. Caveolin-1 (Cav1) favors cell elongation in 3D cultures and promotes Rho- and force-dependent contraction, matrix alignment and microenvironment stiffening through regulation of p190RhoGAP localization and phosphorylation. In turn, microenvironment biomechanical remodeling by Cav1-expressing fibroblasts forces cell elongation and reduces protrusions and Rac1 activity. Cav1-deficient mice have disorganized stromal tissue architecture. Stroma associated with human carcinomas and melanoma metastases is enriched in Cav1-expressing carcinoma-associated fibroblasts (CAFs). Cav1 expression in breast CAFs correlates with low survival, and Cav1 depletion in CAFs decreases CAF contractility. Consistently, fibroblast expression of Cav1, through p190RhoGAP regulation, favors directional migration and invasiveness of carcinoma cells, and increases metastatic potency *in vivo*. Thus, Cav1 modulates tissue responses through force-dependent architectural regulation of the microenvironment.

Communication orale

Tumor necrosis factor Receptor-Associated Factor 4 (TRAF4), a new phosphoinositide binding protein

Auteurs : Adrien ROUSSEAU, Catherine TOMASETTO, Marie-Christine RIO, Fabien ALPY

IGBMC, Strasbourg

E-mail : roussad@igbmc.fr

Résumé

TRAF4 is a ubiquitous gene that is overexpressed in around 40% of carcinomas. This gene encodes an adaptor protein that belongs to the TRAF family. TRAF proteins are cytoplasmic mediators involved in the initial steps of intracellular transduction induced by several cytokines like the Tumor Necrosis Factor α (TNF) and the Interleukine-1. TRAF4 is a unique member of this family, first through its involvement in cancers and second by its absence of function in immunity. It has been shown in polarized epithelial cells that TRAF4 is associated with the plasma membrane in tight junctions. Up to now, the molecular mechanism leading to TRAF4 membrane recruitment remains unknown. Indeed, TRAF4 does not have any plasma membrane targeting motif and none of its known partners localize in the tight junctions.

Several proteins are recruited to membranes through a lipid binding domain. For example, it has been shown that PAR-3 (Partitioning defective 3) is recruited to tight junctions by interacting with phosphoinositides (PI) via its second PDZ domain. We have hypothesized that TRAF4 was recruited to tight junctions thanks to a lipid binding motif. This hypothesis was tested *in vitro* using recombinant TRAF4 proteins on membranes coated with different lipids. The results show that TRAF4 interacts with phosphoinositides and phosphatidic acid through its TRAF domain. Structural analyses of several PI binding domains have shown that basic residues directly interact with phosphoinositide phosphate. So, we are performing several TRAF mutants where conserved basic residues are mutated to know the potential requirement of PI binding for TRAF4 recruitment in the tight junctions.

Tight junctions are needed for epithelial cells polarity establishment and loss of this polarity is a key process during cancer progression and spreading. A better understanding of TRAF4 recruitment mechanism and function in tight junctions could help to understand the pathophysiological role of TRAF4.

Immunité et Cancer

Immune TArgeting of Cancers

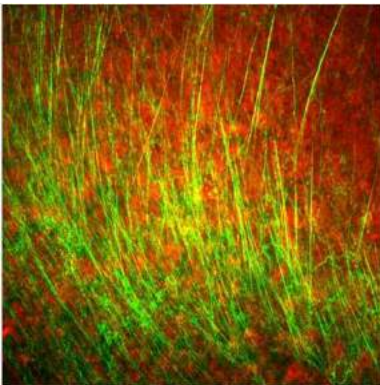
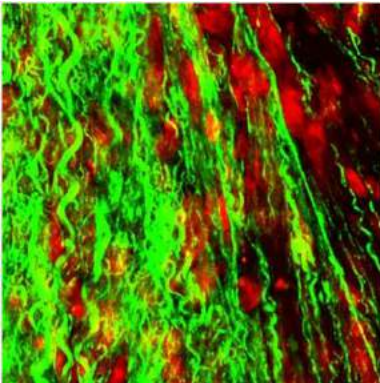
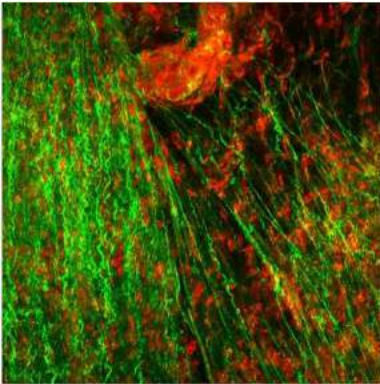
Auteurs : Olivier ADOTEVI, Magalie DOCET, Yann GODET et [Christophe BORG](#)

UMR 645 INSERM, EFS, Université de Franche Comté

E-mail : christophe.borg@efs.sante.fr

Résumé

The goal of active vaccination is to induce immune effectors pathways and to establish immunological memory that is able to maintain continuous surveillance against emergent cancer cells. Among the tumor antigens identified so far, the telomerase reverse transcriptase (TERT) emerges as the first *bona fide* common tumor antigen. The advantages of targeting telomerase in comparison with other tumor antigens are its relative universality and critical function for cancer cells. This opens the way to



Jacky GOETZ et al.

immunotherapeutic approaches aiming at eradicating telomerase-positive tumor cells in human cancer and most of these strategies use TERT-derived CTL epitopes. Immunological responses to endogenous proteins are generally mediated through class I peptide presentation (CTL), but CD4+ helper T-lymphocytes (HTLs) response involving MHC class II presentation has also been engineered into some studies as it is thought to be important for eliciting a robust CTL response and generation of memory cells. Then, we used a predictive approach to identify and then characterize immunogenic peptides in telomerase. The strategy developed to induce a specific helper immune response targeting the telomerase will be presented. The use of specific helper T cell epitopes conferred to telomerase vaccination the capacity to prevent melanoma growth in a preclinical model. Moreover, we could observe that cancer patients with long term survival displayed spontaneous MHC class II restricted immune responses against these specific telomerase peptides.

Nouvelles approches immunothérapeutiques de la LLC : signalisation par des récepteurs de l'immunité innée

Auteur : Marie-Christine BÉNÉ

EA RHEM 4369, Nancy

E-mail : Marie-Christine.Bene@medecine.uhp-nancy.fr

Résumé

Les progrès de la chimiothérapie et de l'immunothérapie, en particulier la reconnaissance de l'efficacité du Rituximab en première ligne de traitement, ont permis d'améliorer la survie des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique (LLC). Cependant, cette maladie, même si elle progresse le plus souvent lentement sans trop obérer la qualité de vie des patients, reste par essence incurable.

Chez les patients nécessitant un traitement et pour lesquels la maladie résiduelle devient indétectable aux seuils actuellement accessibles, il reste potentiellement un pool de cellules malignes susceptible de conduire à une rechute avec éventuellement une transformation en syndrome de Richter.

Il est donc intéressant d'envisager des traitements adjuvants visant à éradiquer ces cellules résiduelles, réfractaires ou inaccessibles à l'immunochimiothérapie. Une des approches possibles serait de créer ou de restaurer une réponse immunitaire cytotoxique spécifique des cellules tumorales. Cette hypothèse repose sur le fait que le clone malin, constitué de lymphocytes B matures, possède par essence un antigène qui lui est totalement spécifique sous la forme de l'idiotype de son immunoglobuline. Si les réponses immunes sont possiblement impliquées dans le non-développement de syndromes lymphoprolifératifs chez les sujets sains, elles sont prises en défaut lorsque la maladie se déclare. De nombreux travaux ont par ailleurs montré que la présence du clone malin est associé à un déficit immunitaire et à une hyporéactivité des réponses T et NK.

Une immunothérapie adjuvante reposant sur une vaccination orientée vers des réponses T implique de disposer de cellules présentatrices d'antigène capables

d'exposer entre autres cet idiotype spécifique dans un contexte de rémission au cours duquel on peut espérer une meilleure réactivité des lymphocytes T.

Une stratégie possible, dont nous poursuivons l'exploration, passe par une stimulation des cellules tumorales, prélevées au diagnostic, pour amplifier leur potentiel, inhérent aux lymphocytes B, de présentation d'antigène. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés à l'expression par ces cellules des « pattern recognition receptors » (PRR) particuliers que constituent les toll-like receptors (TLR). Nous avons montré que les cellules de LLC expriment notamment TLR-7 et TLR-9, de façon différente des lymphocytes B normaux. Dans nos conditions expérimentales, la stimulation de TLR-7 induit une apoptose active pro-inflammatoire rapide et massive des cellules tumorales, tandis que les ODN ligands de TLR-9 favorisent la prolifération et l'activation de ces cellules.

Sur la base de ces observations, les hypothèses thérapeutiques en cours d'exploration seront exposées.

Prognostic and predictive significance of T cell infiltration in breast cancer.

Auteur : François GHIRINGHELLI

INSERM team chemotherapy and immune response. UMR866, Dijon

E-mail : FGhiringhelli@cgfl.fr

Résumé

Accumulating evidence indicates the role of in situ immune cell infiltrates in the prognostic of many cancer types in humans. For instance, in localized breast cancer CD8 infiltrates, and Th1 infiltrates were correlated with a good prognosis and Foxp3 regulatory T cells were associated with poor prognosis. However, these data do not take into account the influence of additional treatments like chemotherapy and radiotherapy. Preclinical studies indeed suggest that anticancer immune responses contribute to the success of anticancer therapies. Yet, the predictive value of tumour-infiltrating lymphocytes after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer remains elusive. We here summarize reports that address this question, focusing on immunological CD8, FOXP3 and Th1 cell infiltrates after treatment as novel independent predictive factor of survival in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. The characterization of predictive factors of survival after anticancer treatments may lead to the identification of high-risk patients in need of additional therapies after neoadjuvant chemotherapy.

Immunothérapie adoptive allogénique du carcinome hépatocellulaire par administration de lymphocytes génétiquement modifiés exprimant un gène de toxicité conditionnelle

Auteurs : Céline LEBOEUF^{1,2}, Laurent MAILLY^{1,2}, Gaetan BOUR³, Sarah DURAND^{1,2}, Nicolas BRIGNON^{1,2}, Christophe FERRAND^{4,5,6}, Christophe BORG^{4,5,6}, Pierre TIBERGHIEN^{4,5,6}, Jean-Marc EGLY³, Robert THIMME⁷, Patrick PESSAUX^{1,2,8}, Jacques MARESCAUX^{3,9}, Thomas F. BAUMERT^{1,2,9}, Eric ROBINET^{1,2}

¹ Inserm, U748, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; ² Université de Strasbourg, Strasbourg ; ³ Institut de Recherche sur les Cancers de l'Appareil Digestif, Strasbourg ; ⁴ Etablissement Français du Sang Bourgogne/Franche-Comté, Besançon ; ⁵ Inserm, U645, Besançon ; ⁶ Université de Franche-Comté, IFR 133, Besançon ; ⁷ Department of Medicine II, University Medical Center, University of Freiburg, Freiburg, Germany ; ⁸ Pôle de Chirurgie Digestive et Transplantation, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg ; ⁹ Pôle Hépatodigestif, Nouvel Hôpital Civil, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg.

E-mail : e.robinet@unistra.fr

Résumé

Alloreactivity is one of the most potent mechanisms of anti-tumor immunotherapy against hemopathies and possibly against solid tumors. This is of particular interest for the development of novel therapeutic strategies for hepatocellular carcinoma (HCC) since treatment options for advanced HCC are limited. Using HCC as a model disease, we aimed to investigate the anti-tumor activity of allogeneic suicide gene-modified killer cells (aSGMKCs), a cell therapy product known to exhibit a potent graft-versus-leukemia effect in hematopoietic stem cell-transplanted patient. The prior retroviral-mediated introduction of a suicide gene, the herpes simplex virus thymidine kinase, into aSGMKCs allows to specifically deplete these effector cells by infusion of a prodrug, ganciclovir, in case of aSGMKC-mediated adverse events.

The present proof-of-concept study uses *in vitro* and *in vivo* methods to characterize the cytotoxic activity of aSGMKC toward HCC cell lines. Our data show that aSGMKCs exhibit a high, rapid, IL-2-dependent and non-MHC class I-restricted *in vitro* cytotoxic activity toward target cells, which is mediated mainly by CD3+CD56+ cells. *In vivo* bioluminescence experiments in immunodeficient recipient mice showed that aSGMKC induced a dose- and time-dependent prevention of tumor growth. Moreover, aSGMKCs exhibited a preferential homing to the liver after intravenous injection, allowing the regression of orthotopic Huh7 HCCs. One anticipated limitation of our approach using allogeneic effector cells is their rejection by the recipient's immune system. However, the cytotoxic activity of aSGMKC is resistant to calcineurin inhibitors. Thus, we show in a murine immunocompetent model that a conditioning regimen with calcineurin inhibitors prevents the rejection of activated allogeneic effector cells, while allowing for their alloreactivity to be exerted.

Conclusion: These results demonstrate for the first time proof-of-concept for the use of aSGMKCs as adoptive allogeneic immunotherapy for HCC in cell culture and animal models. Compared to other immunotherapies, this innovative approach presents the advantage of rapid availability of the cell therapy product. Taken together, our results open the perspective for an evaluation of aSGMKC as an immunotherapy in patients with advanced HCC.

Application en pathologie et en clinique de MUC1 comme biomarqueur dans le cancer du sein

Auteur : Christian GARBAR

CLCC Jean Godinot, Reims

E-mail : Christian.GARBAR@reims.unicancer.fr

Résumé

Background: Breast cancer is the most common cause of cancer mortality in women. Mucins are heterogeneous highly glycosylated transmembrane proteins with a cytoplasmic tail that is conserved across species and is involved in multiple signal transduction pathways possibly intervening in the carcinogenesis. Over-expression of MUC1/CD227 is observed in 90% of breast tumours. To date, several experimental new treatments are produced against MUC1 as in some cases, a tumor-specific epitope may arise that triggers an immune response. Although MUC1 is well known as an independent prognosis factor, most of studies were performed retrospectively with an experimental method using tissue microarray.

The present prospective study is to evaluate the feasibility of immunohistochemistry using the anti-MUC1 Ma695 monoclonal antibody applied on routine histological samples.

Methods: A total of 123 routine histological analyses were performed in 111 different patients, without particular selection (mean +/- SD of age: 57.8 +/- 12.8 years). Histological classical morphologic description and semi-quantitative digital measurement of MUC1 were performed from immunohistochemical stained slides using MUC1 monoclonal antibody Ma695. Results were compared with hormonal receptors, Her2, Ki67, histological and clinical information.

Results: Measures of MUC1/CD227 expression showed statistical differences between non tumoral (NT) breast tissue and Ductal Intraepithelial Neoplasm (DIN) or infiltrating carcinoma (IC), $p < 0.0001$. Interestingly, loss of MUC1/CD227 was correlated with high Ki67 antigens ($p = 0.0182$) and loss of hormonal receptors ($p = 0.003$), whereas no correlations were found with HER2/CD340 expression. Finally, low-grade DIN or IC showed increasing loss of apical polarised secretion of MUC1/CD227 as compared with high-grade tumours.

Conclusions: MUC1/CD227 immunohistochemical staining with the monoclonal antibody Ma695 on routine material is feasible and clinically informative. The analysis of MUC1/CD227 cellular pattern expression allows to differentiate the aggressive grade of IC or DIN and thus constitutes a helpful tool for the pathologist. Because breast cancers exhibit an heterogeneous secretion of MUC1/CD227 molecules in intensity and/or patterns, it is important to evaluate its expression by immunohistochemistry using a reliable anti-MUC1/CD227 mAb not only for prognosis but also for selecting the best candidates for anti-MUC1/CD227 therapies.

Communication orale

Rôle antitumoral du granzyme B produit par les neutrophiles

Auteurs : Cédric SEIGNEZ, Amandine MARTIN, Alessandra SCAGLIARINI, Cindy GODARD, Nathalie DECOLOGNE, Sylvie REVENEAU, Arlette HAMMANN, Amandine BATAILLE, Laurent ARNOULD, Ali BETTAIEB, Jean-François JEANNIN, Catherine PAUL

Laboratoire EPHE / INSERM U866 Equipe 4 « NO et cancer », Dijon

Résumés des interventions

3 novembre

E-mail : cedric.seigneux@gmail.com

Résumé

Depuis plusieurs années, notre équipe étudie les mécanismes à l'origine de l'effet antitumoral d'un analogue de lipide A, l'OM-174. En effet, nous avons montré qu'un traitement par des injections répétées d'OM-174 guérit 95% des rats porteurs de carcinomatoses péritonéales d'origine colique. Alors qu'une faible quantité de neutrophiles est présente en périphérie des tumeurs des rats contrôles, des analyses immunohistologiques ont montré qu'un traitement par l'OM-174 induit un fort recrutement de neutrophiles ainsi que leur infiltration au centre des tumeurs. De plus, nous avons observé que ces neutrophiles infiltrants sont proches de cellules tumorales en apoptoses et contiennent du granzyme B. En utilisant un inhibiteur de granzyme B *in vitro*, nous avons confirmé l'implication du granzyme B produit par les neutrophiles dans l'induction de la mort par apoptose des cellules tumorales.

Cette étude nous a également permis de montrer que les neutrophiles des tumeurs, contrairement à ceux de la rate, expriment du granzyme B. L'analyse du microenvironnement cytokinique de tumeurs et de rates de rats contrôles a mis en évidence des différences d'expression, notamment au niveau de l'expression de l'interleukine 2 (IL-2) et de l'interféron γ (IFN- γ), lesquelles sont fortement exprimées dans les tumeurs. Nous avons montré dans des expériences *in vitro*, réalisés avec des neutrophiles provenant de rates de rats contrôles, que des traitements par ces cytokines sont capables d'induire l'expression de granzyme B par ces neutrophiles.

Ainsi nous avons montré pour la première fois que 1) le microenvironnement tumoral induit la production de granzyme B par les neutrophiles infiltrants des tumeurs, 2) l'immunothérapie par l'analogue de lipide A, l'OM-174, induit l'infiltration des neutrophiles dans les tumeurs ainsi que leur activation et la production de granzyme B, 3) le granzyme B des neutrophiles induit la mort des cellules tumorales *in vivo* et *in vitro*.

Communication orale

Immunomodulatory effects of Toll-like receptors engagement on chronic lymphocytic leukemia cells from patients with progressive and stable disease

Auteurs : Min CHEN¹, Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT¹, Aurore PERROT², Pierre FEUGIER², Gilbert C FAURE¹, Marie-Christine BENE¹

¹ Laboratoire d'Immunologie, CHU de Nancy & EA 4369 RHEM Nancy Université, Nancy ; ² Service d'Hématologie, CHU de Nancy & EA 4369 RHEM Nancy Université, Nancy

E-mail : min.chen1982@gmail.com

Résumé

Chronic lymphocytic leukemia (CLL), the progressive accumulation of CD5+ B-cells with a low proliferative index but prolonged cell survival, remains an incurable disease. The decreased apoptosis and weak immunogenicity of tumor cells contribute to the chronicity of this leukemia. Chemotherapy, supplemented with anti-CD20 and/or anti-CD52 biologicals has shown impressive efficacy in the

chronicity of this leukemia. Chemotherapy, supplemented with anti-CD20 and/or anti-CD52 biologicals has shown impressive efficacy in the treatment of CLL. Among other possible targets on CLL-cells is the expression of TLR-7 and TLR-9, reported to respond to their ligands.

Peripheral mononuclear cells from 34 stable or aggressive CLL patients were separated on Ficoll gradient and cultured for three days, with medium alone, phorbolmyristate acetate (PMA), graded doses of Imiquimod (ligand of TLR-7) or ODN CpG (ligand of TLR-9). The mean fluorescence intensity of CD19, CD5, CD20 and CD52, apoptosis (TUNEL method) and proliferation (CFSE) were measured in flow cytometry. Cytokines were assayed in supernatants in a cytometry based bead test.

PMA induced a significant upregulation of CD19 and CD5 on CLL cells. ODN CpG significantly upregulated CD19 for aggressive patients only, while Imiquimod had no effect. Imiquimod increased the expression of CD20 for stable and progressive patients while ODN CpG had this effect only for stable patients. Both Imiquimod and ODN CpG downregulated CD52. ODN CpG induced proliferation, mostly of progressive patients' cells. Imiquimod induced the apoptosis of CLL cells while triggering an important production of IL-6 and IL-8.

Imiquimod could display antitumoral activity by inducing CLL cells' apoptosis, while the concomitant production of inflammatory cytokines could increase their immunogenicity. The upregulation of CD20 with Imiquimod and ODN CpG suggests that ligation of TLRs on CLL B-cells could be used as adjuvant therapy for patients receiving anti-CD20 monoclonal antibodies. Taken together, at proper dosage, Imiquimod and ODN CpG could be an effective immunotherapeutic strategy in CLL.

Communication orale

Differential and tumour-specific expression of CD160 in B-cell malignancies

Auteurs : Jérôme GIUSTINIANI¹, Timothy W. FARREN^{2,3}, Jacky BERNARD¹, Hervé CURÉ², Armand BENSUSSAN⁴, Samir G. AGRAWAL^{2,3}

¹ Laboratoire de Thérapie Cellulaire, Institut Jean Godinot, Reims ; ² Division of Haemato-Oncology and Immunophenotyping Section, Department of Haematology, St Bartholomew's and Royal London Hospital, UK ; ³ Blizard Institute of Cell and Molecular Sciences, Queen Mary University of London, UK ; ⁴ Inserm U976 and University Denis Diderot, Hôpital Saint-Louis, Paris

E-mail : jerome.giustiniani@gmail.com

Résumé

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.

CD160 is a GPI anchored cell surface receptor 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.

Methods: Here we examined 811 consecutive cases of B-cell lymphoproliferative disorders (B-LPD) including 600 CLL cases, 32 of hairy cell leukemia (HCL), 34 of mantle cell lymphoma (MCL) in leukemic phase and 145 of other B-LPD. Flow cytometry, PCR, tissue microarray and immunohistochemistry were performed.

Results: We demonstrate absent CD160 transcript and protein expression in normal B-cell lineage from hematopoietic stem cells to bone marrow B-cell precursors (hematogones and pre-B cells) and plasma cells. There was no CD160 expression during B-cell maturation, including germinal center and circulating B-cells, nor naïve (CD5+CD19+) B1-cells in umbilical cord. CD160 positivity was significantly higher in CLL and HCL in terms of percentage (65.9 and 67.8%, respectively, $P < 0.0001$) and median fluorescence intensity (552 and 857, respectively, $P < 0.0001$) compared to all other B-LPD. Lymph node CLL samples were also CD160+. Using the disease-specific expression of CD5, CD23 and CD160, a score of 3 characterized CLL (diagnostic odds ratio 1430); a score of 0 excluded CLL, MCL and HCL; and the CD23/CD5 ratio differentiated CLL from leukemic CD23+ MCL. In the B-cell lineage, CD160 is a tumor-specific antigen - known to mediate cellular activation signals in CLL - and a novel target for therapeutic manipulation and minimal residual disease monitoring.

Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS

1

Observatoire des Mélanomes de la région Champagne-Ardenne : caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des mélanomes diagnostiqués entre 2004 et 2008

Auteur(s) : Coralie BARBE¹, Elisabeth HIBON², Florent VITRY¹, Annick Le CLAINCHE¹, Florent GRANGE³

¹ Unité d'Aide Méthodologique, CHU de Reims ; ² Laboratoire de Pathologie, Centre de Regroupement Informatique des Statistiques Anomopathologiques de Champagne-Ardenne, Reims ; ³ Service de Dermatologie, CHU de Reims

E-mail : cbarbe@chu-reims.fr

Résumé

Contexte : Les données d'incidence et de mortalité sur le mélanome (M) sont nombreuses, mais les études détaillant les caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des cas incidents sont rares.

Objectif : Décrire les caractéristiques des M diagnostiqués dans la région Champagne-Ardenne entre 2004 et 2008 et identifier d'éventuelles différences selon l'âge, le sexe et le département.

Méthode : Recueil des comptes rendus anatomopathologiques anonymisés des M incidents en Champagne-Ardenne entre 2004 et 2008. Validation et relevé de données sociodémographiques, cliniques et anatomopathologiques à partir de ces comptes rendus par un groupe d'experts (dermatologues, anatomopathologistes et épémiologistes).

Résultats : 177 M *in-situ* ont été diagnostiqués. Les patients ayant un M *in situ* de la tête ou du cou étaient plus vieux que ceux ayant un M *in situ* d'une autre localisation (72±10 vs 54±15 ans, p<0.0001). 661 M invasifs ont été diagnostiqués, correspondant à un taux d'incidence annuel standardisé sur la population mondiale de 6,3/100000. Les hommes avaient des M plus épais (Breslow médian=1,20 vs 0,90mm, p=0,0006) et plus souvent ulcérés (54% vs 41%, p=0,01). La localisation prédominante était le tronc chez les hommes (47%) et les membres inférieurs chez les femmes (48%). Les sujets âgés (≥ 60 ans) avaient des M plus épais (Breslow médian=1,36 vs 0,80mm, p=0,0002), plus souvent localisés au niveau de la tête et du cou (28% vs 9%, p<0,0001). Les M de type nodulaire, acro-lentigineux et inclassables étaient plus épais que les autres types histologiques (Breslow médian=3,20 vs 0,80mm, p<0,0001). Les M étaient plus souvent de stade II (AJCC) dans les Ardennes (44% vs 30% dans les 3 autres départements, p=0,004).

Conclusion : Les campagnes d'information et de dépistage devraient cibler les régions rurales, les hommes, les sujets âgés et se focaliser sur les M nodulaires, acro-lentigineux et inclassables.

2

Colorectal cancer survivors: long-term impact on familial, social, and professional life. A population-based study

Auteur(s) : Agnès CARAVATI-JOUVENCEAUX^{1,2}, Guy LAUNOY³, Delphine KLEIN⁴, Michel HENRY-AMAR⁵, Edwige ABELLARD³, Anne-Sophie WORONOFF⁶; Astrid POZET⁷; Michel VELTEN^{4,7}, Mariette MERCIER^{1,2}

¹ Department of Biostatistics, EA 3181, University of Franche-Comté, Besançon; ² Cancer Clinical Research Unit, University Hospital Jean Minjot, Besançon; ³ Calvados Digestive Cancer Registry, ER13 INSERM University Hospital, Caen; ⁴ Department of Epidemiology and Public Health, Bas-Rhin Cancer Registry, EA 3430, University of Strasbourg, Strasbourg; ⁵ Calvados Cancer Registry, François Baclesse Comprehensive Cancer Center, Caen; ⁶ Doubs Cancer Registry, EA 3181, University of Franche-Comté, Besançon; ⁷ Paul Strauss Comprehensive Cancer Center, Strasbourg

E-mail : acaravati@chu-besancon.fr

Résumé

Contexte : The number of long term colorectal cancer survivors is increasing. Cancer and its treatment can cause physical and psychological complications, but little is known about how it impacts on reintegration in long-term after the diagnosis. Our objective was to evaluate changes in family, social, and professional situation occurred 5, 10, and 15 years after diagnosis compared with population controls.

Methods : Cancer survivors and controls were randomly selected respectively from three cancer registries in France in 1990, 1995 and 2000 and from electoral rolls, stratifying on gender, age class, and residence area. Participants completed a life conditions questionnaire collecting situation at the survey time and diagnosis time. A logistic regression was used to evaluate the risk of change for survivors compared with controls.

Results : We included 344 colon cancer, 198 rectal cancer survivors, and 1181 controls. Cancer survivors saw their marital relationship has strengthened (RR = 4.89 (2.09-11.44); p<0.0001). Their health closely influenced professional activity more often than controls (RR = 4.50 (1.85-10.95); p<0.0001). They met more difficulties in loan or insurance requests (RR = 3.83 (1.99-7.37); p<0.0001) whatever tumor location and gender. Conversely, they met less changes in sexual intercourses (RR = 0.60 (0.40-0.90); p=0.0007) and monthly incomes but not linked to health (RR = 0.40 (0.25-0.63); p<0.0001). Their health less influenced decline in sports permanently (RR = 0.52 (0.32-0.83); p=0.0003) and daily activities strongly (RR = 0.37 (0.20-0.69); p<0.0001) than controls.

Discussion and conclusion : Colorectal cancer survivors noted positive changes or less negative changes than controls in married, family, or social life, a sign of adaptation of patients to their cancer. However, they still have to face barriers that are keeping in job by avoiding early retirement and accessing to insurance or a bank loan, as it has already demonstrated in breast cancer.

3

Risque de cancer colorectal après résection d'un premier adénome en fonction du lieu de domicile (rural/urbain), en Côte d'Or : une étude en population générale

Auteur(s) : Isabelle FOURNEL, Vanessa COTTET, Christine BINQUET, Valérie JOOSTE, Jean FAIVRE, Anne-Marie BOUVIER, Claire BONITHON-KOPP

Inserm U866, Université de Bourgogne, Dijon, Inserm CIE1, CIC-EC, CHU Dijon

E-mail : isabellefournel@yahoo.fr

Résumé

Contexte : Nous avons précédemment montré que les taux de détection des adénomes colorectaux étaient significativement inférieurs en milieu rural qu'en milieu urbain, alors que les taux d'incidence du cancer colorectal (CCC) étaient similaires. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact du lieu de domicile (rural/urbain) sur le risque de CCR dans une cohorte de patients après résection d'un premier adénome colorectal.

Méthode : La cohorte, identifiée grâce au Registre Bourguignon des Tumeurs Digestives, était constituée de tous les individus avec un 1^{er} adénome colorectal diagnostiqué entre 1990 et 1999 et suivis pendant au moins 1 an. La date de point était fixée au 31/12/2003. Le ratio d'incidence standardisé (SIR) a été stratifié selon le lieu de résidence, et le caractère avancé ou non de l'adénome initial. L'impact du lieu de domicile sur le risque de CRC a été estimé avec un modèle de Cox ajusté selon l'âge, le sexe, les antécédents familiaux de CCR et la coloscopie de suivi considérée en variable dépendante du temps.

Résultats : La cohorte était constituée de 5 769 individus et la sévérité de l'adénome initial renseignée pour 5 128. Parmi eux, 79 ont développé un CRC invasif: 28 en rural et 51 en urbain. Le risque de CRC après résection d'un adénome était significativement augmenté par rapport à la population générale pour les adénomes avancés, en urbain (SIR=1,87 [IC95%=1,26-2,67]) et en rural (SIR=3,03 [IC95%=1,92-4,55]). En analyse multivariée, le risque de CCR était significativement accru pour les patients domiciliés en rural après exérèse d'un adénome avancé (HR=1,87 [1,04-3,55], p=0,04), alors qu'il n'y avait pas d'association significative pour les non avancés (HR=0.41 [95%IC: 0.15-1.16]), p=0.10).

Conclusion : Ces premiers résultats montrent un risque de CCR après adénome avancé accru chez les individus domiciliés en zone rurale. Des analyses complémentaires sont nécessaires afin d'identifier les facteurs pouvant expliquer ces disparités.

4

Cohorte FATSEIN : Les déterminants de la fatigue au cours d'une chimiothérapie adjuvante pour cancer du sein (analyse intermédiaire)

Auteur(s) : Christine ROTONDA, Francis GUILLEMIN, Franck BONNETAIN, Michel VELTEN, Thierry CONROY

Plateforme Qualité de Vie et Cancer, Inserm CIC-EC, Service d'épidémiologie et évaluation cliniques, Nancy

E-mail : c.rotonda@chu-nancy.fr

Résumé

Contexte: Les traitements du cancer du sein entraînent de nombreux effets secondaires, le plus perturbant d'entre eux étant la fatigue. Cependant, contrairement à d'autres symptômes, celle-ci est peu étudiée. L'objectif de l'étude est d'étudier l'évolution de la fatigue ainsi que ses déterminants avant, pendant et après les traitements adjuvants.

Méthode : Il s'agit d'une étude longitudinale multicentrique de patientes atteintes d'un cancer du sein invasif. Les patientes ont complété un questionnaire sur la fatigue (MFI-20) et un questionnaire sur la qualité de vie (QdV), le QLQ-C30 de l'EORTC, avant et à plusieurs reprises après leur chirurgie, un questionnaire d'optimisme (LOT) et d'anxiété-trait (STAI Y-B) uniquement avant la chirurgie et un questionnaire d'anxiété-état (STAI Y-A) uniquement lors des suivis. Deux groupes de patientes ont été constitués : le groupe «chimiothérapie» et le groupe «sans chimiothérapie».

Résultats : Entre Août 2008 et Août 2009, 201 patientes ont été incluses et suivies pendant 1 an dont 125 (62,2%) dans le groupe «chimiothérapie» et 76 (37,8%) dans le groupe «sans chimiothérapie».

L'étude longitudinale montre que la fatigue évolue différemment dans le temps selon le traitement (interaction groupe*temps : $F_{(1,124)}=4,96$; $p=0,02$). Néanmoins, aucun effet groupe n'est observé. Les analyses transversales indiquent que les traits de personnalité de la patiente interviennent dans l'expression de la fatigue principalement chez les patientes «sans chimiothérapie», avec un effet protecteur de l'optimisme et un effet délétère de l'anxiété-trait et que les caractéristiques sociodémographiques et cliniques n'interviennent pas dans l'expression de cette fatigue. Enfin, une forte fatigue est associée à une mauvaise QdV et cela principalement dans les domaines des fonctions physiques et cognitives.

Conclusion : Ces premiers résultats devront être confirmés lors de l'analyse finale incluant 557 patientes actuellement suivies dans l'étude FATSEIN.

Recherche Translationnelle

5

Characterization of microvesicles shed by Head and Neck Squamous Carcinoma Cells (HNSCC) and effect of Cetuximab

Auteur(s) : Valérie JOUAN-HUREAUX¹, Frédéric MASSIN², Véronique LATGER-CANNARD³, Cédric BOURA¹ and Béatrice FAIVRE¹

¹ EA4421 SIGReTO, Faculté de Pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy 1, Nancy Université, Nancy ; ² Plateforme Nancytomique, CHU, Nancy ; ³ Service d'Hématologie Biologique, CHU, Nancy

E-mail : valerie.jouan-hureaux@pharma.uhp-nancy.fr

Résumé

It has been showed that cancer cells shed microvesicles that were able to interact with

surrounding cells present in the microenvironment or moving at distance to affect different stages of tumor progression.

Early detection of cancer and measure of treatment's effectiveness require an identification of biomarkers.

The overexpression of EGFR plays a crucial role in the development of HNSCC and is often associated with poor prognosis and justifies the clinical use of monoclonal antibody targeting EGFR or EGFR tyrosine kinase inhibitors.

The purpose of this study was to characterize several surface membrane markers of tumor microvesicles (TMV) to specify their cellular origin and to study the effect of anti-EGFR drug on the shedding of TMV by HNSCC in order to prove a new anti-cancerous efficacy level of anti-EGFR therapy.

Methods: TMV were obtained from two HNSCC lines (Cal27 and FaDu) grown during 48 hours in medium containing 2% FCS with or without cetuximab. Flow cytometry was used to detect and characterize TMV using calibration beads and fluorescent monoclonal antibodies specific for EGFR, EPCAM and Tissue Factor. The size of TMV was evaluated using Dynamic Light Scattering.

Results: Cal27 and FaDu shed TMV in the same amount. EPCAM was not detected on the surface of these TMV, despite its expression was found in both cell lines used. According to the more elevated EGFR expression of CAL27 compared with FaDu, EGFR was found mainly on Cal27-TMV. Cetuximab decreased the release of TMV by Cal27 and FaDu but induced a significant decrease of EGFR expression only on CAL27-TMV. TF was detected mainly on FaDu-TMV and its expression on TMV was not influenced by cetuximab.

Conclusion: HNSCC cells shed TMV which carry different markers according to the cell line used. EPCAM cannot be used to determinate the cellular tumor origin of TMV. Cetuximab was able to regulate the shedding of TMV and to reduce EGFR expression on CAL27-TMV. Nevertheless, a new marker must be found in order to follow the evolution of these HNSCC-TMV in patients.

6

Pediatric versus adult high grade gliomas: large scale molecular analyses reveal key differences

Auteur(s) : Aurélia NGUYEN, Christelle LASTHAUS, Erwan PENCREACH, Madeleine JAILLET, Marie-Pierre GAUB, Dominique GUENOT, Natacha ENTZ-WERLE

EA 4438 – Université de Strasbourg – groupe « Marqueurs moléculaires de progression tumorale et de sensibilisation aux drogues anticancéreuses », CHU, Strasbourg

E-mail : Natacha.entz-werle@chru-strasbourg.fr

Résumé

Despite new therapeutic managements in high grade gliomas, these brain tumors remain highly resistant with a worse outcome in the pediatric and adult populations. Therefore, there is a real need to develop novel therapeutic approaches to improve patient survival. Although paediatric high grade gliomas resemble their adult counterparts in many ways, there

appear to be distinct clinical, biological and molecular differences. All these reasons conduct our Lab to carry out a detailed molecular characterization of pediatric high grade gliomas (HGG) in comparison to adult grade III and IV gliomas.

Patients and methods: 15 pediatric HGGs, 45 adult oligodendrogliomas and 66 adult glioblastomas were included in the study. All these fresh frozen biopsies prior to any treatment were studied at the DNA level by large scale allelotyping and CGH array.

Results: Significant differences distinguish adult versus pediatric malignant tumors. Common chromosomal gains or losses were observed in adult and pediatric HGGs like 10q23 (PTEN), 17p13 (p53) and 19q with significant differences in term of frequencies. As a whole, pediatric HGGs were more frequently rearranged than their adult counterparts and differential chromosomal gain and loss occurred. The pediatric tumors were specifically characterized by the involvement of 8p23, 9q34, 16q24, 18q22 loci and region from 5q31 to 5qter. Most of them have also a prognostic impact in case of rearrangement on pediatric patient overall survival.

In conclusion, molecular profiling showed substantial differences in the molecular features underlying pediatric and adult HGG, indicating that findings in adult tumors cannot be simply extrapolated to younger patients.

7

Développement d'une méthode de recherche de la maladie résiduelle (MRD) dans le tissu ovarien autoconservé en cas de leucémie aiguë

Auteur(s) : Tristan ZVER^{1,2}, Fanny ANGELOT-DELETTRE^{2,3}, Magalie ALVERGNAS-VIEILLE^{1,4}, Clotilde AMIOT^{1,2,4}, Pierre-Simon ROHRlich^{2,5}, Francine GARNACHE-OTTOU^{2,3}, Christophe ROUX^{1,2,4}

¹ Service de Génétique Histologie Biologie du Développement et de la Reproduction CECOS, CHU Besançon ; ² Inserm UMR645, IFR133, Université de Franche-Comté, Besançon ; ³ Plateforme de BioMonitoring, EFS Bourgogne Franche-Comté, Besançon ; ⁴ CIC de Biothérapie, CHU, Besançon ; ⁵ Service d' Hématologie, CHU, Besançon

E-mail : christophe.roux@univ-fcomte.fr

Résumé

L'autoconservation du cortex ovarien est proposée à des fillettes ou des femmes jeunes devant subir un traitement hautement gonadotoxique, dans le but de préserver leur fertilité. Actuellement et en l'absence d'autres techniques, l'autogreffe est la seule option pour restaurer la fertilité. Elle n'est possible que si l'indication de la cryoconservation est une pathologie non néoplasique ou à faible risque de localisation métastatique ovarienne. Dans les autres cas, le tissu ne peut pas être réutilisé du fait de l'absence de technique codifiée pour évaluer la MRD. Le but de ce travail a été de mettre au point des techniques de recherche de cellules leucémiques dans le tissu ovarien.

Le modèle expérimental développé a consisté en l'obtention de cellules ovariennes isolées (par action mécanique et enzymatique) à partir de fragments de cortex ovarien (frais ou cryoconservé, provenant de

résections pour syndrome des ovaires polykystiques), auxquelles ont été ajoutées des cellules étrangères leucémiques parfaitement caractérisables, puis à rechercher ces cellules par cytométrie en flux et RQ-PCR quand un marqueur moléculaire était disponible.

La technique de dissociation tissulaire mise au point, isole en moyenne $1,5 \cdot 10^6$ cellules ovariennes vivantes par 100 mg de cortex. La cytométrie en flux 8 couleurs permet de vérifier la spécificité des marqueurs phénotypiques utilisés par l'absence de cellules leucémiques dans le cortex ovarien non contaminé et atteste de la sensibilité des immunomarquages en retrouvant des cellules leucémiques (de LAL ou LAM) jusqu'à la dilution de 10^{-4} (n=5). Quand cela était possible, le marqueur BCR-ABL a été détecté aux mêmes dilutions par RQ-PCR.

Ces résultats devraient permettre la mise en place d'études pour rechercher la MRD et valider des procédures de qualification des greffons autoconservés en cas de leucémie aiguë, mais aussi de proposer des recommandations pour l'utilisation du tissu ovarien cryoconservé par technique d'autogreffe.

8

$\alpha 5\beta 1$ integrin antagonists inhibit human glioblastoma tumorigenicity

Auteur(s) : Anne-Marie RAY^{1,2}, Hana JANOUSKOVA¹, Anne MAGLOTT¹, Isabelle PFEIFFER¹, Erika COSSET¹, Dominique BONNET², Sophie MARTIN¹, Didier ROGNAN² and Monique DONTENWILL¹

¹ Université de Strasbourg, LBP, CNRS UMR 7213, Strasbourg ; ² Université de Strasbourg, LIT, CNRS UMR 7200, Strasbourg

E-mail : amray@unistra.fr

Résumé

Scientific background : $\alpha 5\beta 1$ integrins are involved in brain tumor aggressiveness. It is over-expressed in glioblastoma (GBM). Only few antagonists of this integrin are currently known. We explored the effects of one such antagonist, the K34c, on $\alpha 5\beta 1$ integrin signaling pathways and functional effects in human GBM cell lines.

Methods : U87MG and U373 cells manipulated to express different levels of the $\alpha 5$ integrin subunit were treated with K34c. Total and phosphorylated AKT, total and phosphorylated FAK (focal adhesion kinase) were measured by western blotting in the absence or presence of K34c. Cell survival was assessed by clonogenic assays. Cell migration was quantified by a global wound-healing assay and a single cell tracking assay.

Results : The inhibition of $\alpha 5\beta 1$ integrin with K34c dose dependently decreases Akt activation in U87 cell lines in relation with the level of $\alpha 5$ integrin expression. In clonogenic assays K34c was able to decrease the U87MG cell survival. In these cells, AKT pathway is related to cell survival. Inversely, U373 cells treated with K34c did not show any effect on AKT activation. The phosphotyrosine-397-FAK was not affected in U87MG cell treated with K34c. Inversely, FAK phosphorylation was decreased in U373 cells. FAK activation is implicated in cell migration. We therefore tested the capability of cells to migrate in the absence or

presence of the integrin antagonist. We showed that migration was inhibited equally in the U87MG cells expressing high and low level of $\alpha 5$ integrin. Conversely, in U373 cells, migration was inhibited only in cells expressing the $\alpha 5$ subunit. These results suggest that the $\alpha 5\beta 1$ integrin antagonist K34c may have cell specific effects affecting either survival and/or migration depending on the cell characteristics.

Conclusions : Our results highlight the $\alpha 5\beta 1$ integrin as a potential therapeutic target in GBM. They underline the need to develop and characterize new antagonists more selective and more efficient to inhibit the promitogenic functions of $\alpha 5\beta 1$ integrin.

9

Diagnosing colon cancer by infrared imaging: a new insight using spectral histopathology of paraffinized tissue microarrays

Auteur(s) : Jaya Krupakar NALLALA¹, Marie-Danielle DIEBOLD^{1,2}, Cyril GOBINET¹, Olivier PIOT¹, Olivier BOUCHÉ^{1,3}, Valérie UNTEREINER¹, Ganesh D. SOCKALINGUM¹, Michel MANFAIT¹

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

Résumé

Introduction: Colorectal cancer is the third most common type of cancer globally affecting both men and women ⁽¹⁾. As of now, histopathology remains the gold standard method for colon cancer diagnosis. However, novel methodologies complementary to existing approaches are constantly being tested and evaluated for better understanding of the onset and progression of the disease. Infrared (IR) imaging could be a good candidate method because of its capability to probe intrinsic chemical bonds present in the tissue, thus unraveling biochemical composition and the structures via its "spectral fingerprint". To this end, we have developed IR spectral histopathology, which combines IR imaging and data processing techniques, in order to identify tissue biochemical and structural characteristics in view of implementing a prediction model which could be used for diagnostic purposes.

Methodology: 9 normal and 25 tumoral paraffinized colon tissue sections in the form of tissue microarrays (3 mm diameter x 10 μ m thick) were analyzed directly by IR imaging. To avoid chemical deparaffinization, a modified Extended Multiplicative Signal Correction (EMSC) ⁽²⁾ was used to digitally neutralize the spectral interferences of paraffin and agarose and to preserve only the biochemical information from the tissue.

Results: The LDA based prediction model was successful to identify and predict the tumoral tissues with an average sensitivity of 91 %, in external (N=24) and internal plus external (N=34) validations. It also revealed tissue features like intra-tumoral heterogeneity and stroma close to tumor, which are difficult to discern by conventional histopathology.

Conclusion: This novel approach of label-free IR

imaging on paraffinized tissue biopsies combined with multivariate statistical image analysis appears as a promising tool for colon cancer diagnosis and opens the way to the new concept of numerical spectral histopathology. Approaches to improve the prediction model are underway.

1. GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer (IARC)* (2008).
2. E. Ly et al, *Analyst*, 133 197–205 (2008).

10

Analysis of membrane fluidity in sensitive and multidrug-resistance human cancer cells : a study using Fluorescence Correlation Micro-Spectroscopy

Auteur(s) : Pascale WINCKLER¹, Rodolphe JAFFIOL¹, Aurélie CAILLER^{1,2}, Laurence VAN GULICK², Christine TERRYIN³, Pascal ROYER¹, Pierre JEANNESSON, Hamid MORJANI

¹ UTT, LNCI, LRC CEA, Institut Charles Delaunay, Unité CNRS FRE2848, Troyes ; ² URCA, IFR53, Faculté de Pharmacie, MEDyC Unité CNRS UMR6237, Reims ; ³ IFR53, Plateforme Imagerie Cellulaire et tissulaire, Reims

E-mail : pierre.jeannesson@univ-reims.fr

Résumé

Expression of P-glycoprotein (P-gp), the multidrug resistance (MDR) 1 gene product, can lead to MDR in tumors. Previous studies on multidrug-resistant cells have suggested changes in membrane fluidity associated with P-gp expression in drug-selected resistant cells. However, Aleman and co-workers have shown that, in MDR1 transfected cells, expression of P-gp has little effect on membrane fluidity and the changes in this parameter observed in drug-selected cells must reflect other host adaptations to drug selection. In this study, membrane fluidity has been measured using fluorescence anisotropy or electron spin resonance spectroscopy on cell population samples (Aleman et al. *Cancer Res.* 2003 63:3084-91).

Here, we propose to explore the plasma membrane microfluidity by using the fluorescent membrane probe DiA and fluorescence correlation micro-spectroscopy (FCM-S) on a single living cell and nanometer scale. By using the fluorescent membrane probe DiA and FCM-S to explore the plasma membrane micro-fluidity, we have previously shown a decrease in plasma membrane micro-fluidity in LR73R cells (the Chinese hamster ovarian LR73 cells transfected with MDR1 cDNA; Boutin et al., *J Biomed Opt.* 2009 14: 034030).

However, the FCM-S yielded opposite data when we compared the membrane micro-fluidity of several parental cell lines (MCF7, KB3.1, LR73, ME-SSA) and their resistant counterparts which have been selected in the presence of anticancer drugs. Our data are not in agreement with previous published data and demonstrates clearly that alterations that can affect drug-selected cells do not induce any changes in membrane fluidity. Moreover, micro-analysis of cell membrane could allow to more precise measurements of membrane fluidity.

11

Lauréat de l'AAC Congrès

Validation of a 2D multispectral camera: application to dermatology/cosmetology on a population covering five skin phototypes

Auteur(s) : Romuald JOLIVOT

Laboratoire LE2I, Systèmes d'Imagerie Non-Conventionnelle (SINC), UFR Sciences et Techniques, Université de Bourgogne, Dijon

E-mail : Romuald.Jolivot@u-bourgogne.fr

Résumé

This poster presents the validation of a new multispectral camera specifically developed for dermatological application based on healthy participants from five different Skin PhotoTypes (SPT). The multispectral system provides images of the skin reflectance at different spectral bands, coupled with a neural network-based algorithm that reconstructs a hyperspectral cube of cutaneous data from a multispectral image. The flexibility of neural network based algorithm allows reconstruction at different wave ranges. The hyperspectral cube provides both high spectral and spatial information. The study population involves 150 healthy participants. The participants are classified about their skin phototype according the Fitzpatrick Scale and population covers five of the six types. The acquisition of a patient is performed on three body locations, two skin areas exposed to the sun (hand, face) and one area not exposed to the sun (lower back) and each is reconstructed at 3 different wave ranges. The validation is performed by comparing data acquired from a commercial spectrophotometer with the reconstructed spectrum obtained from averaging the hyperspectral cube. The comparison was calculated between 430 to 740 nm due to the limit of the spectrophotometer used. The results reveal that the multispectral camera is able to reconstruct hyperspectral cube with a goodness of fit coefficient superior to 0,997 for the average of all SPT for each location. The study reveals that the multispectral camera provides accurate reconstruction of hyperspectral cube which can be used for analysis of skin reflectance spectrum.

12

Lauréate de l'AAC Congrès

Etudes de biocompatibilité d'une prothèse de trachée en titane poreux

Auteur(s) : Agnès DUPRET-BORIES^{1,2}, Nihal Engin VRANA¹, Dominique VAUTIER¹, Philippe SCHULTZ², Christian DEBRY², Philippe LAVALLE¹

¹ Unité Inserm 977, Faculté de Médecine, Strasbourg ; ² Service d'ORL et chirurgie cervico-faciale, CHU, Strasbourg

E-mail : agnes.dupret@chru-strasbourg.fr

Résumé

Introduction : Les résections de trachée, supérieures à 6 cm, rendent impossible une anastomose directe. Elles nécessitent alors une trachéostomie définitive responsable d'une altération majeure de la qualité de vie.

Matériel et méthode : Grâce à un partenariat industriel, notre équipe a développé un biomatériau constitué d'un

assemblage de microbilles de titane. Rigide, inerte et poreux, il a permis la réalisation d'une prothèse expérimentée, en remplacement d'une portion de trachée. Cette prothèse a fait l'objet d'études *in vivo* en remplacement d'un segment trachéal chez le lapin. Un polymère biodégradable à base de PLA (poly(acide l,d-lactique)), comblant les pores des prothèses en titane poreux a été mis au point en parallèle.

Résultats : L'implantation de prothèse trachéale en titane poreux nue chez le lapin (n=3) a mis en évidence une colonisation endo et péri-prothétique limitée avec une survie des animaux inférieure à 4 semaines. L'analyse du comportement *in vitro* de l'implant trachéal hybride PLA/ prothèse en titane poreux a montré des propriétés requises à la migration d'un épithélium respiratoire sur la face endoprothétique tout en autorisant la colonisation de la périphérie de la prothèse par les tissus musculaires environnants et ce grâce à un gradient de porosité décroissant de la périphérie vers l'intérieur de la prothèse.

Conclusion : Rendre une prothèse en titane poreux fonctionnelle en remplacement d'un segment trachéal passe par l'ajout d'un polymère PLA. Les premiers essais *in vivo* chez le lapin d'implantation de prothèse trachéale hybride PLA/ prothèse en titane poreux sont en cours et se révèlent très prometteurs

Infections Virales et Cancer

13

Analysis of biomarkers profiles to predict HPV 16 infection outcome

Auteur(s) : [Alexandra BROCHOT](#)¹, Véronique DALSTEIN^{1,2}, Emilie CAILLIEZ¹, Marianne LORENZATO², Stéphanie CAUDROY^{1,2}, Philippe BIREMBAUT^{1,2}, Christine CLAVEL^{1,2}

¹ Inserm UMR-S 903, IFR53, CHU, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims ; ² CHU, Laboratoire Pol Bouin, Reims

E-mail : alexandra.brochot@inserm.fr

Résumé

Background: In the perspective of a future cervical screening based on primary HPV testing, the management of HPV positive women, and mostly HPV16 positive women, will be a challenge. There will be a need for risk stratification to distinguish between the vast majority of transient HPV infections and the few persistent infections that need intensified follow-up.

Objectives: The aim of this study is to analyze putative biomarkers, alone or in combination, to evaluate their use to predict the outcome of HPV16 infection as transient or as persistent and progressive infection.

Methods: Patients from the "Reims HPV Cohort Study", with an HPV16 infection and normal cytology at baseline and archival DNA/RNA available, are selected according to the follow-up data: (i) patients with subsequent negative HPV16 and normal cytology smears, referred to as "transient/benign HPV16 infection" group; (ii) patients who presented a progressive disease leading to CIN2/3 lesion with

persistent HPV16 infection, referred to as "persistent/progressive HPV16 infection" group. The following biomarkers are being assessed on the baseline sample: co-infections with other HPV genotypes (InnoLipa test), ploidy, full-length E6/E7 mRNA detection (EasyQ), E2 gene integrity (5 overlapping PCR and 1 full-length E2 gene PCR), L1 methylation status (pyrosequencing).

Results : The selection of patients is ongoing, as well as the analysis of the biomarkers baseline status. To date, we identified 49 and 10 patients in the "benign" and "progressive" HPV16 groups, respectively. Cumulative probabilities of CIN2/3 development will be estimated using the Kaplan-Meier method for each selected biomarker, alone or in combination.

Conclusions: The definition of such a biomarker profile to predict cervical precancerous lesion would be useful for the management of HPV16 infections associated with a normal cytology. The potential impact would also be important in the near future for the follow-up of vaccinated women who could be HPV16 positive.

14

Validation of Duplex Real-Time PCR for the simultaneous detection and quantification of HPV16 and HPV18 genomes

Auteur(s) : [Jean-Luc PRETET](#)¹, Maëlle SAUNIER¹, Frédéric MAUNY¹, Elisabeth SCHWARZ², Christiane MOUGIN¹

¹ Université de Franche-Comte, EA3181, IFR133, CHU Besançon ; ² Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg, Germany

E-mail : jean_luc.pretet@univ-fcomte.fr

Résumé

Context: HPV16 and HPV18 are responsible for more than 75% of cervical cancers and high viral loads are associated with both prevalent and incident precancerous lesions. These two genotypes are also targeted by two commercialized vaccines. Therefore, the detection and quantification of HPV16 and 18 should represent a future strategy for cervical cancer screening.

Method: For this purpose we developed a duplex real-time PCR allowing the simultaneous quantification of both genotypes. Mixes of HPV16 and HPV18 whole genome plasmids were prepared to test a wide range of viral DNA concentrations with simplex and duplex PCR.

Results: We observed that the values obtained for each mix of plasmid with the simplex and the duplex PCR were very close the theoretical values except when the genotype concentrations differed of at least 3 logs. Then, we applied our method on cervical samples harboring HPV16 only, HPV18 only or both HPV types. Again, HPV16 and HPV18 loads were very similar between simplex and duplex PCR.

Conclusion: This method appears very reliable to quantify HPV16 and HPV18 genomes. However, it needs to be tested in clinical setting to confirm its usefulness for clinical applications. This PCR technique has been developed thanks to the CGE-DKFZ program in Applied Tumour Virology and has been recently patented (patent n°11305393.8 - 2402).

15

Caractérisation moléculaire de l'hypoxie intra-tumorale des carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx

Auteur(s) : Elodie HANNS¹, Christine MACABRE¹, Sonia LEDRAPPIER¹, Bohdan WASYLYK², Georges NOEL¹, Joseph ABECASSIS¹, Alain C. JUNG¹

¹ Laboratoire de Biologie Tumorale, EA3430, CRLCC Paul Strauss, Strasbourg ; ² Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104 CNRS, Inserm U964, Université de Strasbourg, Strasbourg

E-mail : elodie.hanns@etu.unistra.fr

Résumé

Contexte : Les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures (VADS), dont l'incidence est particulièrement élevée en Alsace, sont connus pour être fréquemment hypoxiques. Ces tumeurs sont de mauvais pronostic. Le facteur de transcription HIF1 α , exprimé dans les régions tumorales hypoxiques, est impliqué dans la régulation de la réponse à l'hypoxie et dans la progression tumorale. Les prolyl hydroxylases PHD1, 2 et 3 contrôlent la stabilité de HIF1 α en induisant sa dégradation en normoxie. La réponse à l'hypoxie implique également le facteur de transcription Net qui est un puissant répresseur de la transcription en normoxie et un activateur transcriptionnel en hypoxie. Net et HIF1 α co-régulent l'expression de nombreux gènes induits par l'hypoxie grâce à la formation du complexe Net/HIF1 α /PHDs.

Méthode : Nous avons analysé par RT-PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR) le niveau d'expression des gènes membres du complexe Net/HIF1 α /PHDs et de certains de leurs gènes cibles dans 22 tumeurs oropharyngées infectées par HPV (HPV+) et 30 tumeurs oropharyngées non infectées par HPV (HPV-).

Résultats : Nous observons que les tumeurs HPV- expriment un niveau plus élevé de HIF1 α , PHD1 et PHD3, GLUT1, PAI-1, Fra-1 par rapport aux tumeurs HPV+. Cependant, les gènes Net et VEGF ne semblent pas être régulés au niveau transcriptionnel. Le gène Fra-1, membre de la famille Fos, semble être impliqué dans la réponse à l'hypoxie.

Discussion : L'analyse de nos résultats de qRT-PCR suggèrent que les tumeurs oropharyngées HPV+ soient moins hypoxiques que les tumeurs oropharyngées HPV-. Ces résultats sont en corrélation avec les observations actuelles qui montrent une survie sans récurrence et une survie globale accrues des patients HPV+. Nos résultats doivent être confirmés par des analyses des niveaux d'expression protéiques et d'immunohistochimie. De plus, il est nécessaire d'analyser par qRT-PCR les autres membres de la famille Fos et de la famille TCF (Net, Elk1 et Sap1).

16

Impact of TGF β on miRNA expression in Epstein-Barr virus (EBV) infected cell lines

Auteur(s) : Ali FENDRI¹, Lassad OUSAIF², Béatrice CHANE-WOON-MING¹, Irène JOAB², Sébastien PFEFFER¹

¹ Architecture et Réactivité de l'ARN, Université de

Strasbourg, Institut de biologie moléculaire et cellulaire du CNRS, Strasbourg ; ² UMR 542 Inserm-Université Paris 11, Hôpital Paul Brousse, Villejuif

E-mail : a.fendri@ibmc-cnrs.unistra.fr

Résumé

MicroRNAs (miRNAs) are a large class of small (22nt) non-coding RNAs that negatively regulate gene expression, and have been shown to be key regulators in a variety of processes including development, cell cycle and immunity. Epstein-Barr virus (EBV) is an oncogenic gammaherpesvirus, endemic in humans, that encodes for twenty-five miRNAs. It is associated with several well-recognized malignancies, such as Burkitt's lymphoma, and nasopharyngeal carcinoma.

We performed small RNA deep-sequencing from the EBV-positive Burkitt's lymphoma cell lines Mutu-I, Sav-I and Kem-I, following both 2h and 24h of TGF β induction to identify differentially expressed miRNAs. A markedly differential expression of cellular and viral miRNAs was observed between the three tested Burkitt's lymphoma cell lines. Interestingly, induction of the lytic cycle *via* TGF β up-regulated expression levels of some EBV miRNA: BHRF1-2 and BART7 and the oncogenic cellular miRNAs mir-155 and mir-146a, which were confirmed by qRT-PCR in all cell lines tested. Interestingly, we also noticed a huge difference in the absolute quantity of these two cellular miRNAs between the three cell lines analyzed. The regulation of these miRNAs may thus represent a key event in the lymphomagenesis of EBV positive Burkitt's lymphoma.

« Omiques » Fonctionnelles des Cancers

17

Etude de la sulfhydryl oxydase QSOX1 dans la biologie des cellules cancéreuses

Auteur(s) : Nicolas PERNODET¹, François HERMETET¹, Anne VEJUX¹, Lisa PAGNOT¹, Jean RADOMI, F DESCOTES^{2,1}, Michèle JOUVENOT¹, Pascale ADAMI¹, Gilles DESPOUY

¹ Laboratoire de Biochimie, E2SNC : Expression génique et pathologies du Système Nerveux Central, Equipe EA 3922, IFR133 UFR ST, Besançon ; ² Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon

E-mail : pernodetn@msn.com

Résumé

Le gène quiescine/sulfhydryl oxydase 1 *QSOX1*, identifié par notre équipe, code une enzyme adressée à la voie de sécrétion et excrétée dans l'espace extracellulaire. Elle est responsable de l'oxydation directe de groupements sulfhydryls en ponts disulfures et de la réduction de l'O₂ moléculaire en H₂O₂. *QSOX1* participe au repliement et à la stabilité des protéines et pourrait ainsi réguler l'activité biologique de ses substrats dans la voie de sécrétion et/ou à l'extérieur de la cellule. L'implication de *QSOX1* dans l'oncogenèse a principalement été étudiée au niveau de la dérégulation de son expression. *QSOX1* est surexprimée dans des cancers de la prostate et dans

des adénocarcinomes pancréatiques. A l'inverse, l'expression du gène *QSOX1* est réprimée dans les tumeurs endothéliales.

Notre étude en collaboration avec le CHU de Lyon Sud, réalisée sur 216 tumeurs de cancer du sein canalaire infiltrant, a montré que le taux d'expression de *QSOX1* est inversement corrélé à l'agressivité de ces tumeurs. Un haut niveau d'expression de *QSOX1* semblerait être un marqueur de bon pronostic dans ce type de cancer. Nous avons donc étudié le rôle de *QSOX1* dans les phénotypes cellulaires caractéristiques des cellules cancéreuses de sein à l'aide d'un modèle cellulaire de surexpression (MCF-7) et d'un modèle cellulaire d'extinction (MDA-MB231). Ainsi, *QSOX1* entraîne une diminution de la prolifération cellulaire et favorise l'adhérence à la matrice extra-cellulaire. De plus, *QSOX1* perturbe les phénotypes associés à l'agressivité des cellules cancéreuses en diminuant la clonogénicité et la croissance indépendante de l'ancrage. Enfin *QSOX1* réduit le potentiel invasif des cellules *in vitro* en diminuant la migration cellulaire et en régulant négativement l'activité de la métalloprotéase MMP-2 impliquée dans ces mécanismes.

Nos résultats suggèrent que *QSOX1* pourrait contribuer au contrôle négatif du développement tumoral et métastatique

18

Genotoxic stress modulates CDC25C phosphatase alternative splicing in human breast cancer cell lines

Auteur(s) : Hélène ALBERT, Eric BATTAGLIA, Denyse BAGREL

Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire et Biochimie Pharmacologique, EA 3940, FR CNRS 2843, Université Paul Verlaine, Metz

E-mail : albert2@univ-metz.fr

Résumé

CDC25 phosphatases play a crucial role in cell cycle progression and are overexpressed in a large number of cancers. CDC25 are represented by three isoforms: CDC25A, CDC25B and CDC25C, encoded by three different genes, all of them subjected to an alternative splicing mechanism. Alternative splicing is an essential process concerning about 90% of human genes, thus contributing to proteomic diversity. Many studies are currently focusing on alternative splicing regulation in cellular stress conditions. However, none of them has been conducted so far on CDC25.

In this study, we showed that the DNA-damaging agent doxorubicin affects CDC25C splicing profile, but not the one of CDC25A and B, in MCF-7 (sensitive) and VCREMS (multidrug resistant) human mammary adenocarcinoma cells. CDC25C5 splice variant proportion was increased about 10-fold in comparison to that of CDC25C1 variant at both mRNA and protein levels. A similar alteration of CDC25C alternative splicing was observed with other genotoxic agents, including the topoisomerases inhibitors camptothecin and etoposide, the electrophilic agent cisplatin and the reactive oxygen species-generating agent *tert*-butyl hydroperoxide. Using γ -H2AX as a specific marker of DNA damage, we showed that CDC25C alternative splicing modulation only occurs in condition of low DNA

damage, in association with a cell cycle arrest, before disappearing at the onset of apoptosis. Moreover, part of the signaling pathway mediating CDC25C splicing modulation was elucidated, as we observed that this process was dependent on ATM/ATR kinases and independent on p53.

In conclusion, our results provide new insights concerning the variety of regulation events involved in cellular response to DNA damage. Further studies are needed to elucidate the exact mechanism by which CDC25C alternative splicing is modulated and the real significance of this event in relation to cellular resistance to genotoxic stress.

19

Activités antioxydantes cytoprotectives de substances naturelles et leurs applications en chimiothérapie

Auteur(s) : Houda BENBOUBKER, Stéphanie PHILLIPOT, Gilbert KIRSCH, Aarab LOTFI, Denyse BAGREL

Université Paul Verlaine, Metz

E-mail : Houda@benboubker.com

Résumé

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est fortement impliquée dans les mécanismes de toxicité des médicaments utilisés en chimiothérapie et donc dans la génération de leurs effets secondaires. L'emploi d'agents protecteurs couplés à la chimiothérapie fait donc l'objet de recherches intensives en vue d'une utilisation optimale des molécules anticancéreuses. L'objectif de ce travail est de sélectionner et d'isoler parmi les substances naturelles des molécules nouvelles présentant un pouvoir antioxydant, protecteur des cellules non-cancéreuses, mais n'affectant pas l'efficacité des substances anticancéreuses vis-à-vis des cellules tumorales.

Dans un premier temps, une étude ethnopharmacologique de quatorze plantes provenant de la région Fès-Boulemane (Maroc) a été réalisée. Le criblage a permis de sélectionner des plantes ayant des potentialités antioxydantes et antiradicalaires : *Delphinium Staphysagria*, *Berberis Hispanica* et *Aristolochia Longa*. Ces activités ont été évalué *in vitro* par les méthodes FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) et DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) en comparaison avec des molécules de référence comme la vitamine E (Trolox[®]) et le BHT (Hydroxytoluène butylé). Les résultats indiquent que les extraits de trois plantes sélectionnées présentent des propriétés antioxydantes élevées, *Berberis Hispanica* de l'ordre de 18,61 nmol de Fe/mg de matière sèche pour l'extrait aqueux, 0,791 nmol de Fe/mg de matière sèche pour l'extrait éthyle acétate et 32,62 nmol de Fe/mg de matière sèche. Ceci nous a conduits à fractionner les extraits bruts de cette plante. L'analyse phytochimique et l'utilisation de la chromatographie flash sur les extraits organiques a permis de séparer des fractions actives et inactives.

Par la suite, la cytotoxicité des extraits de *Berberis Hispanica* a été testée sur les cellules d'adénocarcinome mammaire MCF-7 et des cellules épithéliales mammaires non cancéreuses immortalisées

hTERT-HME1 à l'aide du test MTT. Les trois extraits (aqueux, éthyl acétate et méthanol) présentent une cytotoxicité comparable avec une CI50 de l'ordre 297,5 mg de MS/mL, 8190mg de MS/mL et 308 mg de MS/mL respectivement, pour les MCF-7. Les CI50 sont de l'ordre de 150mg de MS/mL, 8190 mg de MS/mL et 300 mg de MS/mL respectivement pour les hTERT-HME1. L'évaluation de l'effet cytoprotecteur des extraits sur le taux de ROS intracellulaire grâce à la sonde H2DCF-DA par cytométrie en flux à révélé que l'extrait méthanolique exerce un effet protecteur sur la lignée de cellules non cancéreuses hTERT-HEM1 contre le stress oxydant induit par le t-BHP avec une diminution du taux des ROS de 50,12% .

L'ensemble de ces résultats permettra de valider l'intérêt de l'utilisation de ces extraits de plantes en cancérologie.

20

Characterization of the underlying mechanism of cranberry juice-induced cytotoxicity in human colon cancer cell lines

Auteur(s) : Israa DANDACHE, Laurène AOUN, Nelly ETIENNE-SELLOUM, Mahmoud ALHOSIN, Tanveer SHARIF, Guy FUHRMANN, Cyril AUGER, Christian BRONNER, Valérie B SCHINI-KERTH

UMR CNRS 7213, Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, Université de Strasbourg, Faculté de Pharmacie, Strasbourg

Email : israadandache@gmail.com

Résumé

Introduction : Polyphenols are natural compounds widely present in fruits and vegetables, which have strong antimutagenic and anticancer properties. In the present study, several polyphenol-rich berry juices containing about 5 g/L total polyphenols, assessed as gallic acid equivalents (GAE), were evaluated for their antiproliferative effect in human colon cancer cell lines: HCT116, HT29, Caco-2, and SW480.

Methods : Cytotoxicity was determined by the MTS assay. The cell cycle analysis was assessed by flow cytometry. Finally, modifications in protein expression were examined by western blotting. ANOVA test was used for statistical comparison.

Results : Chokeberry (*Aronia Melanocarpa*), black-currant (*Ribes nigrum*), and cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) juices inhibited markedly HCT116 cell proliferation whereas blueberry (*Vaccinium Cyanococcus*) and lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) juices were less effective. The most effective juice was cranberry juice with an EC₅₀ values around 100 µg/ml, GAE. These juices were also effective, although to a lesser extent, against other human colon cancer cell lines including HT29, Caco-2, and SW480. The antiproliferative effect of the cranberry juice was associated with cell cycle arrest in G2/M phase in a concentration-dependent manner, which was confirmed by a downregulation of both cyclin B1 and UHRF1. These effects were also associated with an upregulation of the tumor suppressor p73 and the cleavage of PARP, a marker for apoptosis, along with the downregulation of SIRT1.

21

Antiproliferative and apoptotic effects of black currant juice (*Ribes nigrum*) on lymphoblastic leukemia cells: effect on SIRT1 and MAPKs

Auteur(s) : Tanveer SHARIF, Mahmoud ALHOSIN, Nelly ETIENNE-SELLOUM, Cyril AUGER, Guy FUHRMANN, Valérie B. SCHINI-KERTH

UMR CNRS 7213, Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, Université de Strasbourg, Faculté de Pharmacie, Strasbourg

E-mail : tanveer.sharif@unistra.fr

Résumé

Polyphenols are a group of naturally occurring compounds widely present in fruits and vegetables in human daily diets. These compounds have been reported to show anticancer and anti-mutagenic activities. Black currant juice (*Ribes nigrum*) is a rich source of polyphenols containing about 4.1 g/L.

The aim of the present study was to determine whether black currant juice inhibits the proliferation of acute lymphoblastic leukemia cells (Jurkat cells) and, if so, to determine the underlying mechanism. Black currant juice inhibited the proliferation and induced cell cycle arrest in G2/M phase that led to a strong apoptotic effect. Cell cycle arrest and apoptotic effects were accompanied by an upregulation of p73 and caspase-3, and down-regulation of UHRF1 and SIRT1. Down-regulation of SIRT1 shows that black currant juice inhibits an epigenetic integrator which regulates the expression of tumor suppressor genes such as p73.

These findings indicate that black currant juice is a strong inducer of apoptosis in Jurkat cells. Mechanistic studies revealed that black currant juice significantly increased the formation of reactive oxygen species (ROS). The formation of ROS was accompanied with a strong upregulation of stress-related kinases (pJNK, p38 MAPK, pERK and pAkt) in a time-dependent manner. Intracellular inhibitors of ROS such as MnTMPyP, N-acetylcysteine and PEG-catalase inhibited the black currant juice-induced formation of ROS and upregulation of stress-related kinases. Intracellular inhibitors of ROS also prevented the changes in the expression levels of p73, caspase-3, UHRF1 and SIRT1. These results show that the role of ROS in black currant juice mediated changes in the expression of various proteins. The role of black currant juice-induced formation of ROS and upregulation of stress-related kinases in apoptosis still remains to be explored. These results indicate that black currant juice is a potent inducer of apoptosis in acute lymphoblastic leukemia cells and, hence, may be of potential in leukemia therapy.

22

Influence d'un mélange d'octyl et de nonylphénols sur la croissance de tumeurs testiculaires d'origine germinale

Auteur(s) : Hussein AJJ¹, Angelina WALLACIDES¹, Sophie PINEL², François PLENAT², Stéphane FLAMENT¹, Amand CHESNEL¹, Hélène DUMOND¹

¹ Faculté des Sciences, Université de Nancy 1, Nancy ; ² Faculté de Médecine, Université de Nancy 1, UPRES EA 4421, Signalisation, Génomique et Recherche Translationnelle en Oncologie (SIGRETO), Nancy

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

Résumé

Les 4-tert.octyl (4tOP) et 4-nonylphénol (4NP) sont des perturbateurs endocriniens persistants classés comme substances prioritaires par la directive européenne sur l'eau. Ils sont produits lors de la biodégradation des effluents urbains à partir des éthoxylates correspondants, utilisés comme antioxydants dans les emballages alimentaires, les produits d'entretien... Plusieurs études suggèrent le potentiel estrogénique et anti-androgénique des 4tOP et 4NP et leur présence est avérée dans les eaux de boissons et les denrées alimentaires d'origine industrielle. Parallèlement, alors que les observateurs font état d'un doublement des cas de cancer testiculaire chez les jeunes adultes dans les 30 dernières années, nous avons montré que la vitesse de prolifération de cellules issues de cancers testiculaires dépend de la présence de stéroïdes, ce qui permettrait de classer les séminomes et les carcinomes embryonnaires parmi les tumeurs hormono-sensibles. Nous avons évalué l'effet de faibles doses (pM) d'un mélange [4NP + 4OP] sur la croissance de tumeurs testiculaires *in vitro* et *in vivo* en associant :

- une étude *in vitro* comparative sur 2 lignées cellulaires représentatives des séminomes (TCam2) et des carcinomes embryonnaires (NT2/D1), comportant (i) une caractérisation des effets des mélanges de micropolluants sur le cycle cellulaire et l'apoptose qui a révélé une augmentation des marqueurs de prolifération cellulaire associée à l'activation d'une voie de signalisation estrogénique non conventionnelle, (ii) une analyse transcriptomique,
- le développement d'un modèle de souris xéno greffées : l'analyse des animaux ayant subi un traitement pendant 28 jours est en cours. Les premiers résultats suggèrent, là aussi, une accélération de la progression tumorale induite par le mélange [4NP + 4OP].

Nous élargissons actuellement cette étude en utilisant un modèle d'exposition fœtale à ce mélange pour en déterminer l'impact sur l'initiation du cancer testiculaire chez le rat.

23

Tomentosin from *Inula viscosa* L. induces telomere shortening and caspase-dependant apoptosis in cervical cancer cells

Auteur(s) : Nawel MERGHOUB^{1,2}, Hassan EL BTAOURI², Laila BENBACER¹, Saïd GMOUH¹, Chantal TRENTESAUX³, Christine TERRYN⁴, Mohamed EL MZIBRI¹, Saïd AMZAZI¹, Hamid MORJANI²

¹ LBI, Université Mohamed V, CNESTEN et CNRS, Rabat, Maroc ; ² MEDyC CNRS UMR 6237, UFR Sciences et UFR Pharmacie, Reims ; ³ MNHN, Inserm U565, CNRS UMR 7196, Paris ; ⁴ IFR 53, Plateforme Imagerie Cellulaire et Tissulaire, Université de Reims, Reims, France.

E-mail : hamid.morjani@univ-reims.fr

Résumé

Tomentosin, a natural sesquiterpene lactone purified from of *Inula viscosa* L., was investigated for its anti-proliferative, telomere shortening and apoptotic effects on human cervical cancer HeLa and SiHa cell lines. Tomentosin was found to significantly inhibit the growth of SiHa and HeLa cervical cancer cell lines in dose and time-dependent manner (IC50 values of 7.10 ± 0.78 µM and 5.87 ± 0.36 µM, respectively after 96h of treatment). As evidenced by TTAGGG telomere length assay, tomentosin targets specifically the telomeric overhang lengthening. This was confirmed by the evaluation of the cytotoxic effects of tomentosin in the foetal fibroblasts MRC5 and MRC5/V1 cells which were established by transfecting of MRC5 cells with h-TERT, the catalytic sub-unit of telomerase. We found that MRC5/V1 cells are 4.7-fold more sensitive to tomentosin which argues for telomere as its specific target. Furthermore, we found that tomentosin mediate this cytotoxic effect by inducing apoptosis and cell cycle arrest at G2/M phase. Morphological features of treated cells, as evidenced by Hoechst 33324 staining, revealed that the cytotoxic effect was due to induction of apoptosis. This was accompanied by procaspase-3 cleavage, an increase in caspase-3 activity and a cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP). Moreover, tomentosin induced a decrease in mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) and elevation of reactive oxygen species (ROS), accompanied by a decrease in Bcl-2 expression. This indicates that tomentosin-induced apoptosis may involve a mitochondria-mediated signaling pathway.

This study provides the first evidence that tomentosin targets telomere machinery and induces apoptosis in cervical cancer cells. The molecular mechanism underlying tomentosin-induced apoptosis may involve a mitochondria-mediated signaling pathway.

24

PPAR γ -independent effects of thiazolidinediones: a promising mechanism for new anticancer drugs

Auteur(s) : Christelle COLIN¹, Sarra CHBICHEB¹, Michel BOISBRUN², Isabelle GRILLIER-VUISOZ¹, Sandra KUNTZ¹, Sabine MAZERBOURG¹, Hélène MARTIN³, Lysiane RICHERT³, Yves CHAPLEUR², Stéphane FLAMENT¹

¹ EA4421 Signalisation, Génomique et Recherche Translationnelle en Oncologie, Faculté des Sciences, Nancy-Université, Université Henri Poincaré, Nancy ; ² Groupe S.U.C.R.E.S., UMR 7565 Nancy-Université, CNRS, Nancy ; ³ Laboratoire de Toxicologie Cellulaire, EA 4267, IFR133, UFR des Sciences Médicales et Pharmaceutiques, Besançon

E-mail : christelle.colin@scbiol.uhp-nancy.fr

Résumé

In France, breast cancer is the most frequent cancer in women and represents the second leading cause of

cancer death in this population. The development of *de novo* and acquired resistance to therapies on the one hand and the absence of targeted therapy for the treatment of some types of tumours on the other hand, motivate the search for new therapeutic agents. Thiazolidinediones are studied in our lab in this context. These PPAR γ ligands display antiproliferative effects *in vitro* and *in vivo* and have been tested in clinical trials for breast cancer. Nevertheless, due to hepatic toxicity, compounds like troglitazone (TGZ) were discarded from the market. Recently, it was shown that thiazolidinediones exert their anticancer effects mainly in a PPAR γ -independent manner. This led to the synthesis of $\Delta 2$ -thiazolidinedione derivatives devoid of PPAR γ agonist activity and which could display less toxicity.

$\Delta 2$ -TGZ induces the PPAR γ -independent proteasomal degradation of cyclin D1 or ER α in breast cancer cell lines MDA-MB-231 and MCF7 after a 24 hours exposure. This compound also induces a transient increase in the expression of the transcription factor « Early Growth Response gene 1 » (EGR1) (maximum after 3 hours of treatment). It is the result of an early increase in intracellular calcium followed by ERK1/2 activation. The inhibition of EGR1 expression using siRNA reduces $\Delta 2$ -TGZ antiproliferative action. $\Delta 2$ -TGZ also triggers endoplasmic reticulum (ER) stress whose involvement in the antiproliferative effect is under study.

Although $\Delta 2$ -TGZ and TGZ inhibit cell proliferation similarly, the former is less toxic towards human hepatocytes. Hence, new derivatives of $\Delta 2$ -TGZ were synthesised. Interestingly, some of them display a higher antiproliferative activity and a lower toxicity. Taken together, these data provide evidences that the PPAR γ -independent effects of thiazolidinediones could be helpful in the context of translational research.

25

Lauréate de l'AAC Congrès

Effect of Cetuximab treatment on induction of angiogenesis by HNSCC cell line depending on PTEN expression

Auteur(s) : [Jihane MRIOUAH](#)

Coordonnées : EA4421 SiGRETo, Faculté de Pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy 1, Nancy Université, Nancy.

E-mail : jihane.mriouah@pharma.uhp-nancy.fr

Résumé

Our work aimed to identify the ability of the HNSCC cell line Cal 27 to induce angiogenesis, regarding PTEN expression and anti-EGFR treatment.

Cal 27, a human HNSCC cell line expressing PTEN has been transfected by a PTEN-siRNA and exposed to cetuximab for 48 hours. The culture media were then collected to be used as conditioned media for HUVEC and aortic rings culture. Aortic rings sprouting and tubular structures from HUVEC have been investigated by microscopy and quantified by AngioQuant software. The conditioned media have been also characterized by an analysis of key factors involved in angiogenesis regulation using Proteome Profiler Array.

The anti-angiogenic effect of cetuximab in HNSCC seems to result from a direct effect of the anti-EGFR on endothelial cells rather than an effect mediated by tumoral cells, despite a VEGF concentration

significantly lower due to cetuximab exposure. PTEN is involved in the regulation of vasculature in HNSCC. But surprisingly, loss of PTEN expression in Cal 27 leads to a reduction of the tumoral cells ability to induce angiogenesis. This process is not linked to the VEGF concentration changes but is mediated by a global change in the molecular constitution of conditioned media.

26

Role of JNK/ATF-2 pathway in inhibition of thrombospondin-1 (TSP-1) expression and apoptosis mediated by doxorubicin and camptothecin in FTC-133 cells

Auteur(s) : Hamid MORJANI², Yannick GREFFE¹, Emmanuelle CHARPENTIER¹, Laurent MARTINY¹, [Hassan EL BTAOURI¹](#)

1 Laboratoire SIRMA (Signalisation Cellulaire et Récepteurs Matriciels), UMR-CNRS 6237, UFR Sciences, Reims ; 2 Laboratoire MéDIAN, UMR-CNRS 6237, UFR Pharmacie, Reims

E-mail : hassan.elbtaouri@univ-reims.fr

Résumé

Our previous studies have shown that camptothecin (CPT) and doxorubicin (DOX) triggered ceramide accumulation via *de novo* synthesis pathway. *De novo* ceramide generation was responsible for drug-induced apoptosis through a caspase-3-dependent pathway and a decrease of TSP-1 expression in human thyroid carcinoma FTC-133 cells.

A wealth of reports have suggested that kinases represent one of the key steps in signaling cascades initiated by the binding of survival factor or activation of death receptors that control the survival/apoptosis balance. Activation of JNK has been proposed as a potential mechanism leading to cell death during development or pathophysiological conditions. On one hand, ceramide has been reported to mediate cell death through activation of JNK. On the other hand, JNK has been suggested to play a role in response to chemotherapeutic agents via the activating transcription factor 2 (ATF-2).

Here, we demonstrate that JNKs play a critical role in CPT- and DOX-induced down-regulation of TSP-1 expression and apoptosis activation: i) *de novo* ceramide synthesis pathway activates JNK 1/2 resulting in activating transcription factor 2 phosphorylation; ii) cell treatment by SP600125, a JNK specific inhibitor, strongly reduced activating transcription factor 2 phosphorylation and completely abolished CPT and DOX effects; and iii) activating transcription factor 2 expression silencing greatly attenuated CPT- and DOX-induced downregulation of TSP-1 expression and apoptosis. The set of our data established that CPT- and DOX-induced activation of JNK/activating transcription factor 2 pathway via *de novo* ceramide synthesis down-regulates TSP-1 expression and apoptosis in FTC-133 cells.

Our present data demonstrate that pharmacological activation of JNK/ATF-2 may contribute to the attenuation of TSP-1 anti-apoptotic effect by inhibition of its expression. Thus, the JNK/ATF-2 signaling pathway may be studied further as a critical target for a novel approach to overcome chemoresistance in thyroid carcinoma.

27

Lauréate de l' AAC Congrès

Regulation of Cdx2 by hypoxia in the colon cancer

Auteur(s) : Lydia DERBAL, Erwan PANCREACH, Isabelle DULUC, Jean Noel FREUND

Insert U682 De l'homéostasie tissulaire au cancer et à l'inflammation, équipe « facteurs de transcription homéotiques de la famille CDX dans le développement, l'homéostasie et les pathologies du système digestif », Strasbourg

E-mail : derballili@yahoo.fr

Résumé

Background and aim: Our recent data using an allosteric effector of haemoglobin indicate that increasing the oxygen load in human colon cancer cell lines xenografted in nude mice reduced tumor growth and stimulate cell differentiation. Since the homeobox gene Cdx2 is an important regulator of intestinal cell differentiation, which is downregulated in invasive cells, we have investigated the effect of hypoxia on Cdx2 expression in human colon cancer cells cultured in vitro.

Methods: Human colon cancer cell lines Caco2-TC7 and SW480, which both express Cdx2 in standard conditions of culture in normoxia (20% oxygen) were shifted to hypoxia (3% oxygen) for 1 to 3 days. The RNA and protein expression of Cdx2 were investigated by RT-qPCR and Western blots and the transcriptional activity of the promoter was analyzed using reporter plasmids. Signalling pathways were challenged using pharmacological drugs and by gain or loss of function using appropriate expression plasmids or siRNA.

Results: The mRNA and protein expression of Cdx2 decreased by twofold in hypoxic compared to normoxic conditions of culture. Moreover, the transcriptional activity of a 9-kb promoter of Cdx2 stimulated by HNF4 α and GATA6 was also reduced in hypoxic cells. siRNA to knockdown HIF1 α or HIF2 α did not restore the expression of Cdx2 in hypoxia, and reciprocally the overexpression of HIF1 α in normoxia did not decrease Cdx2. Inhibition of Topoisomerase I by Irinotecan, of the mTOR pathway by Rapamycin, of VEGF-R by Sorafenib or the activation of the PKA pathway by Forskolin were also without effect. However, LY294002, but not Wortmannin, prevented the decay of Cdx2, and also U0126. PIM1-3 or CK2, both inhibited by LY294002, but not by Wortmannin, were not involved in this process.

Conclusion: Cdx2 is downregulated by hypoxia in colon cancer cells in culture, which may be related to the decay observed predominantly in the invasive tumor cells in vivo. The downregulation is independent of HIF, and involves a pathway dependant of PI3K-related and ERK kinases that remains to be fully characterized.

28

Regulation of the p73 proteins by calmodulin kinases in neuroblastoma and neuronal precursors

Auteur(s) : Orphée BLANCHARD, Yannick Von GRABOWIECKI, Jean-Philippe LOEFFLER, Georg MELLITZER, Christian GAIDDON

Insert U692, Strasbourg, France

E-mail : gaiddon@inci-cnrs.unistra.fr

Résumé

p73 proteins have been implicated in cancer development, such as neuroblastoma, by regulating critical cellular processes that include cell cycle, cell death and differentiation. Through alternative promoters, the p73 gene encodes two classes of isoforms called TAp73 and Δ Np73. Recent work of the group demonstrated the opposite roles of TAp73 β and Δ Np73 β in the DNA damage response in neuronal precursor or differentiated neurons.

In order to understand more precisely the biological function of p73 proteins and their regulations, we examined the post-translational modifications of p73 in neuroblastoma cells and neurons. A bioinformatics analysis pointed toward several potential phosphorylation sites. Among them, two sites are particularly interesting as they are conserved in human and mouse and they are potential targets for the serine/threonine Ca²⁺/Calmodulin-dependent kinase II (CamKII), which plays a key role in neuronal cell death and has been shown to participate in cell cycle regulation. Additionally, we confirmed the phosphorylation of p73 by CamKII in vitro. We also observed that expression of TAp73 β and Δ Np73 β is modulated in neurons with altered Ca²⁺ homeostasis. Then, we demonstrated that overexpression of CamKII or its inhibition affects p73 activity and protein levels. Interestingly, an opposite regulation was observed with the pro-survival kinase CamKIV. To further understand the molecular mechanisms of these regulations, we started to investigate the possible phosphorylation of the S134 site due to its interesting localization in the DNA binding domain. We showed that mutation of S134 to a non-phosphorylatable alanine led to drastic changes in TAp73 β regulations by CamKII and CamKIV.

Altogether, our study indicate that p73 isoforms are regulated by CamK in neuroblastomas. Further investigation will more precisely characterize the phosphorylation sites involved as well as the repercussions on p73 function in neuroblastomas as well as other cancers, such as colon cancers.

29

Récepteur LRP-1 : un nouvel acteur de la dissémination des leucémies aiguës ?

Auteurs: Jérôme DEVY¹, Amélie HATTE¹, Hervé EMONARD¹, Jean-Pierre MAROLLEAU², Laurent MARTINY¹, Emmanuelle CHARPENTIER¹, Stéphane DEDIEU¹

¹ UMR CNRS 6237 MEDyC, Université de Reims Champagne-Ardenne Reims ; ² Service d'Hématologie Clinique, CHU, Amiens

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

Résumé

Les cellules de leucémies aiguës se caractérisent notamment par une augmentation de leurs capacités invasives facilitant leur passage dans la circulation sanguine suivi par un processus d'infiltration extramédullaire dans différents organes. Ce processus d'infiltration est alors associé à une mauvaise réponse aux traitements chimiothérapeutiques et une faible espérance de vie. Ces propriétés invasives dépendent

majoritairement des événements protéolytiques associées à la matrice extracellulaire. Nous nous sommes intéressés à deux lignées leucémiques humaines aigües, la lignée NALM-6 (lymphoïde) et la lignée SHI-1 (myéloïde). Après avoir vérifié le potentiel invasif de ces lignées leucémiques, nous avons mis en évidence l'implication des MMPs et des activateurs du plasminogène dans ce processus grâce à l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques à larges spectres.

Le récepteur LRP-1 (low-density lipoprotein receptor-related protein-1) est un récepteur d'endocytose multifonctionnel capable de réguler l'internalisation et le catabolisme de nombreux ligands associés à la matrice extracellulaire. Ses fonctions dans la diminution de l'arsenal protéolytique extracellulaire semblent pouvoir lui conférer un potentiel anti-tumoral prometteur dans bons nombres de tumeurs épithéliales. Nous nous sommes alors intéressés à l'implication potentielle de LRP-1 dans le potentiel invasif des lignées leucémiques. Nous avons confirmé l'expression de LRP-1 dans ces cellules. Un traitement par RAP (Receptor-Associated Protein), un antagoniste sélectif de LRP-1, induit une augmentation de plus de 70% du potentiel invasif des deux lignées de cellules leucémiques et indique que LRP-1 pourrait réguler les capacités invasives des cellules leucémiques. Parallèlement à ce traitement, nous observons une augmentation importante (i) de l'activité plasmine liée à l'accumulation de la protéine uPA dans les milieux conditionnés et (ii) de la sécrétion et de l'activation des MMP-2 et MMP-9. Une surexpression d'un mini-récepteur de LRP-1 (mLRP4*) dans les lignées NALM-6 et SHI-1 induit une diminution du potentiel invasif des cellules NALM-6 et SHI-1 de 38 et de 49% respectivement, ainsi que des activités protéolytiques associées. L'ensemble de ces effets est réversé par un traitement RAP.

L'ensemble de ces résultats impliquent pour la première fois le récepteur LRP-1 dans la régulation des processus d'infiltration et de dissémination des cellules de leucémie aigüe en limitant la protéolyse matricielle associée. L'étude de l'expression du récepteur à la membrane plasmique de cellules de leucémies aigües issues de patients est en cours afin de valider ces résultats. La surexpression d'un mini-récepteur dérivé de LRP-1 pourrait donc contribuer au développement de stratégies thérapeutiques alternatives dans ce contexte tumoral.

* construction obtenue gracieusement auprès du Dr. [Guojun Bu](#), Department of Pediatrics, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri 63110, USA.

30

Lauréat de l'AAC Congrès

Analysis of type 1 and IV collagens by Raman Microspectroscopy

Auteur(s) : [The Thuong NGUYEN](#), Jezabel FERU, Sylvie BRASSART-PASCO, Michel MANFAIT, Olivier PIOT

Unité MEDyC, Equipe « Biophotonique, Médicaments, Dynamique Cellulaire et Tissulaire », UMR CNRS/URCA 6237, IFR53, UFR Pharmacie, Reims

E-mail : the-thuong.nguyen@univ-reims.fr

Résumé

Type I and IV collagens are important constituents of the skin. Type I collagen is found in skin dermis. Type IV collagen is localized in the basement membrane of the dermo-epidermal junction (DEJ); and maintains the integrity of this thin membrane. Type IV collagen structure is different from type I collagen. The collagen IV N-terminus domains are associated in tetramer, through disulfide bonds and lysine-hydroxylysine crosslinks, to constitute the 7S domain. Type IV collagen presents also several interruptions in the triple helix. There is a correlation between the decrease of collagen IV and the increase in the incidence of skin cancer during aging. Our aim is to use Raman microspectroscopy to probe molecular modifications of JDE, associated with aging. In a first step, we study the correlation between the molecular conformations of type I and IV collagens and their Raman features. Raman spectroscopy, based on a non-destructive light/matter interaction, permits to probe the intrinsic molecular composition of the samples without any staining.

Our analysis was focused on the S-S stretching vibrations and on amide (I and III) bands. The spectral data indicate that the S-S bonds are in gauche-gauche-gauche (very stable) and trans-gauche-trans conformations at the level of the 7S domain of collagen IV. This data could be used as a marker of the stability of the collagen IV network. The amide bands were analyzed by mathematical decomposition, in order to determine the proteins secondary structure. The results show that the α -helix conformation and the triple helix content are more important in collagen I; this is in accordance with the interruption in the Gly-X-Y repeated sequence observed in collagen IV. Raman spectroscopy appears as an innovative tool to characterize the conformational changes of collagens as shown here on purified products. Currently, analyses are performed on skin sections samples.

31

Effect of posttranslational non-enzymatic modifications of collagen on tumor cell adhesion and migration

Auteur(s) : [Georges SAID](#)¹, Marie GUILBERT¹, Emilie MILLEROT-SERRUROT¹, Laurence VAN GULICK¹, Christine TERRY², Roselyne GARNOTEL¹, Pierre JEANNESSON¹

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

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

Résumé

Carbamylation and glycation are nonenzymatic posttranslational modifications that occur throughout the lifespan of proteins *in vivo*. Due to its longevity, collagen type I, present in connective tissues, becomes a prominent target for such modifications. They have been implicated in normal aging and in pathologies (cancer, diabetes).

We investigated the impact of carbamylation and glycation of collagen on the proliferation and migration capacities of the invasive fibrosarcoma cells HT1080. We show that the proliferation of HT1080 on modified

collagens did not differ from that on native form. Concerning tumor cell adhesion, the glycated collagen delayed the adhesion time whereas the carbamylated form had no effect. Using videomicroscopy, the migration ability of HT1080 was studied by quantifying single cell speed. Only, the glycated collagen strongly inhibited cell migration. We next investigated the effect of these collagen modifications on the organization of actin and vinculin, two proteins involved in cell locomotion. On glycated collagen, cells revealed a dramatic loss of actin stress fibers where disorganized F-actin was principally localized at the rim of the cell. Disturbance of actin integrity was accompanied with a disorganization of vinculin that was also localized at the cell periphery. On the other hand, the cells on carbamylated collagen maintained a fully organized actin network. The impact on the focal adhesion kinase (FAK), which plays a crucial role in focal adhesion formation, was also evaluated. Only glycated collagen induced a significant inhibition of the expression level of FAK, whereas both collagen modifications provoke a differential inhibition of its phosphorylation state that is mainly taking place with glycation.

In conclusion, only glycation is demonstrated as an important factor affecting tumor cell migration. This impact has to be certainly considered in order to better understand the link between diabetes, aging and cancer incidence.

32

Differential effect of lumican on the migration of MSC and EPC: involvement of MMP-14

Auteur(s) : Mariusz MALINOWSKI¹, Katarzyna PIETRASZEK¹, Cédric ZELTZ¹, Corinne PERREAU¹, Mateusz BOGUSLAWSKI¹, Véronique DECOT³, Jean-François STOLTZ³, Laurent VALLAR⁴, Jolanta NIEWIAROWSKA⁵, Czesław CIERNIEWSKI⁶, François-Xavier MAQUART^{1,2}, Yanusz WEGROWSKI¹, Stéphane BRÉZILLON¹

¹ Laboratoire de Biochimie Médicale et de Biologie Moléculaire, CNRS UMR 6237, Université de Reims-Champagne-Ardenne, Reims ; ² CHU de Reims ; ³ Unité de Thérapie Cellulaire et Tissus (UTCT), CHU, UMR CNRS 7561, Faculté de Médecine, Nancy ; ⁴ Microarray Center, CRP-Santé, Luxembourg ; ⁵ Department of Molecular and Medical Biophysics, Medical University of Lodz, Poland ; ⁶ Institute of Medical Biology, Polish Academy of Sciences, Lodz, Poland

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

Résumé

Lumican, an extracellular matrix (ECM) protein of the small leucine-rich proteoglycan (SLRP) family, was shown to impede melanoma progression by inhibiting cell migration, angiogenesis and metastasis. Mesenchymal stem cells (MSC) participate to the development of tumor neovascularization and angiogenesis *via* differentiation to endothelial progenitor cell (EPC) phenotype, which in turn enhances tumor metastasis. The aim of the present study was to analyze whether lumican was able to regulate matrix degrading enzymes that facilitate the migration of human bone-marrow MSC and EPC to tumor sites. EPC were generated after *in vitro* differentiation of MSC for 13 days in endothelial cell growth medium in presence of 50 ng/ml of vascular

endothelial growth factor (VEGF). Both type of cells formed tube-like structures on Matrigel®. Lumican inhibited branch formation by MSC, but not EPC. Since matrix metalloproteinases (MMP) are able to regulate MSC and endothelial cell migration and tube-like formation, MMP-14, MMP-2, expression and activity were investigated in the cells grown on different ECM substrata (lumican, type I collagen, laminin, fibronectin). Lumican significantly inhibited MMP-14 expression and activity in the cell layer of MSC but not in EPC. MMP-2 activity did not change significantly in both cell types. Western immunoblotting of MSC and EPC lysates showed a lumican-specific significant increase of the expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase -3 (TIMP-3) in MSC incubated on lumican substratum. Video-tracking analysis of MSC and EPC in a wound healing assay showed that lumican inhibited MSC but not EPC migration. Altogether, our results suggest that lumican inhibits MSC tube-like formation and migration by a decrease of MMP-14 expression, activity and a concomitant donor-dependent increase of TIMP-3 expression.

A

Ajj H. p. 41
Albert H. p. 39
Aubry R. p. 12

B

Beaussant Y. p. 15
Benboubker H. p. 39
Béné M.C. p. 28
Bensussan A. p. 18
Binder-Foucard F. p. 14
Bonetta A. p. 22
Borg C. p. 27
Bouvier A.M. p. 11
Brézillon S. p. 45
Brochot A. p. 37
Buache E. p. 25

C

Cavarati A. p. 32
Chatton B. p. 23
Chen M. p. 30
Colin C. p. 41

D

Dalstein V. p. 21
Dandache I. p. 40
Davidson I. p. 24
Derbal L. p. 43
Devy J. p. 43
Devys D. p. 24
Duca L. p. 23
Duchamp O. p. 16
Dupret-Bories A. p. 36

E

El btaouri H. p. 42
Entz-Werle N. p. 17/34

F

Fendri A. p. 38
Fournel I. p. 33

G

Gaiddon C. p. 43
Garbar C. p. 29
Garrier J. p. 19
Ghiringhelli F. p. 28
Giustiniani J. p. 30
Goetz J.G. p. 26
Grange F. p. 13/32

H

Hamade H. p. 25
Hanns E. p. 38
Happillon T. p. 19
Herault Y. p. 24

J

Janouskova H. p. 18
Jeannesson P. p. 36
Jégu J. p. 14
Jolivot R. p. 36
Jouan-Hureaux V. p. 33

L

Limacher J.M. p. 20

M

Morjani H. p. 41
Mriouah J. p. 42

N

Nallala J. p. 35
Nguyen T.T. p. 44

P

Peiffert D. p. 17
Pernodet N. p. 38
Pfeffer S. p. 20
Prézet J.L. p. 37

R

Ray A.M. p. 35
Robinet E. p. 28
Rotonda C. p. 33
Rousseau A. p. 26
Roux C. p. 34

S

Said G. p. 44
Sauleau E.A. p. 12
Saupe F. p. 16
Seigneur C. p. 29
Septans-Poirier A.L. p. 12
Sharif T. p. 40

T

Tournier J.M. p. 23
Travé G. p. 20
Truchot D. p. 13
Truntzer C. p. 18

V

Valmary-Degano S. p. 21
Velten M. p. 11
Vidimar V. p. 26

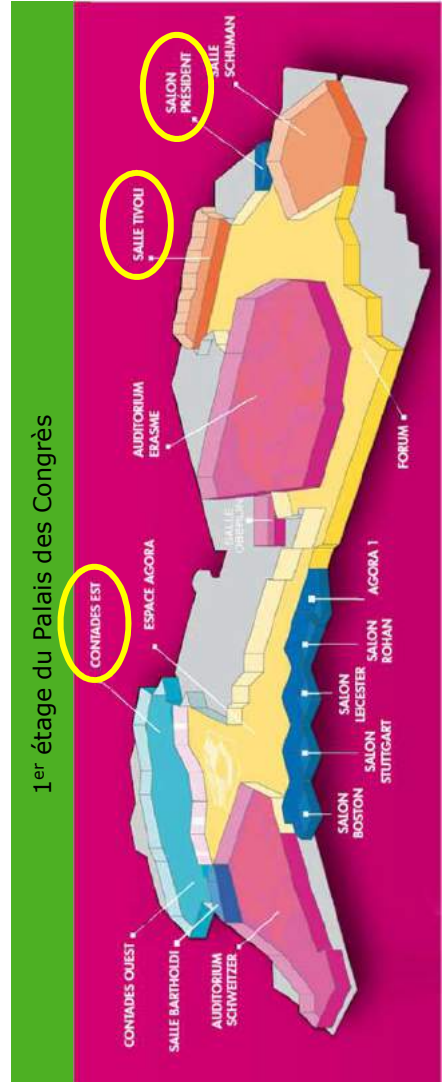
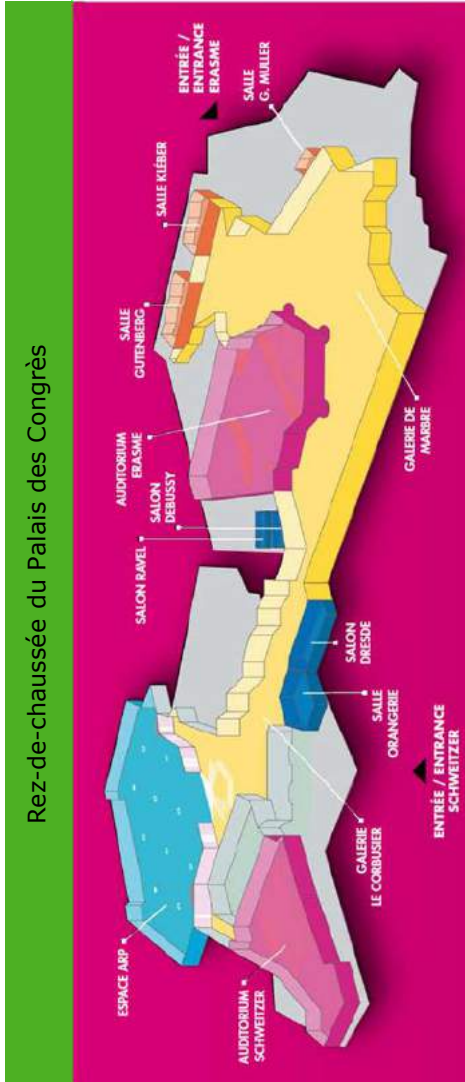
W

Wasyluk B. p. 15

Plan de la manifestation

Le **5^{ème} Forum du CGE** se déroule au 1^{er} étage du Palais des Congrès.

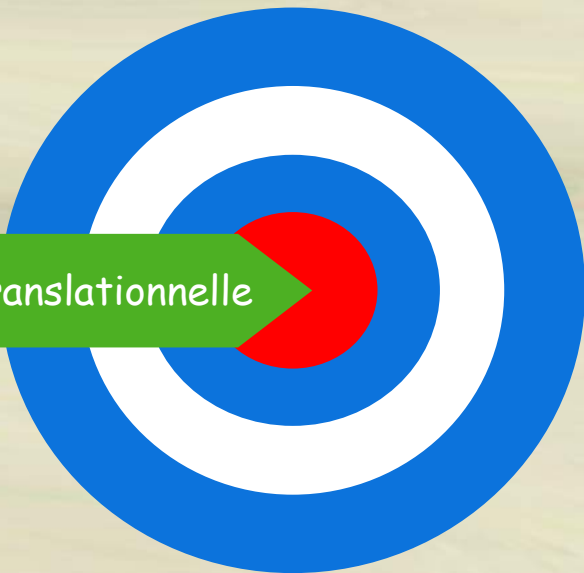
- **Conférences** : salle TIVOLI,
- **Posters/pauses café/cocktails déjeunatoires** : hall TIVOLI/PRESIDENT,
- **Réunions parallèles** : Salle PRÉSIDENT,
- **Dîner de gala** : Salle CONTADES EST.



Contacts : Emmanuelle FAIVRE – Tél.: +33 (0)6 88 79 61 40
Marc GUENNEUGUES – Tél.: +33 (0)6 79 76 98 52

Le Cancéropôle du Grand-Est

**Mobilisation inter-régionale et transfrontalière en
faveur de la recherche contre le cancer**



Cap sur la recherche translationnelle



Préserver la Santé et la Vie

Notre engagement, c'est d'accompagner chaque étape de la vie en transformant les derniers progrès scientifiques et technologiques en solutions nouvelles au service de la santé.

C'est le sens de notre signature «Une Promesse pour la Vie» : toujours travailler avec passion et rigueur pour une meilleure prise en charge des patients dans le monde entier.



* Une Promesse pour la Vie

Antibiothérapie
Autosurveillance du diabète
Biologie moléculaire

Cardiovasculaire
Diagnostic biologique
Hématologie

Immunologie
Nutrition médicale
Oncologie

Pédiatrie
Virologie

Abbott France
10 rue d'Arcueil – BP 90233 – 94528 Rungis Cedex
Tél. : 01 45 60 25 00 – Fax : 01 45 60 04 98 – www.abbott.fr

 **Abbott**
A Promise for Life*

Nos partenaires

