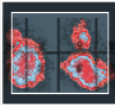


7^{ème} Forum



25 et 26 novembre 2013
Palais des Congrès
Strasbourg





Pierre OUDET – Directeur Scientifique du CGE

CHU et Université de Strasbourg

Le Cancéropôle du Grand-Est (www.canceropole-ge.org) mobilise 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 deux piliers : le **Plan Cancer** piloté par l'Institut National du Cancer (INCa) et la **mobilisation des institutions et collectivités territoriales du Grand-Est**.

La coordination du CGE inscrit la dynamique engagée dans la poursuite de PROCAN I. Elle est ancrée au sein de **5 thématiques prioritaires** :



A – Indicateurs de Santé, Epidémiologie, Sciences Humaines et Sociales

(Animateurs: Francis GUILLEMIN et Didier TRUCHOT)



B – Recherche Translationnelle (biomarqueurs, imageries, essais précoces)

(Animateurs: Pierre FUMOLEAU et Jean-Louis MERLIN)



C – Infections Virales et Cancer

(Animateur: Christine CLAVEL et Alain JUNG)



D – « Omiques » Fonctionnelles des Cancers

(Animateurs: Cécile ROCHETTE-EGLY et Philippe BIREMBAUT)



E – Immunité et Cancer

(Animateurs: Christophe BORG et François GUIRINGHELLI)

L'objectif est : 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. « La recherche translationnelle (ou recherche de transfert) doit permettre un flux bidirectionnel des connaissances de la recherche cognitive vers son application au patient et des observations faites chez le malade vers la recherche cognitive. Elle implique donc une étroite coopération entre chercheurs et cliniciens » (source INCa)

Cette dynamique repose sur l'engagement de tous et la mobilisation des acteurs : référents régionaux, membres du Comité des Cliniciens, porteurs de projets émergents, de nouvelles plates-formes comme en métabolomique, pharmacocinétique, partage d'images et données et, développements en amont et aval.

L'engagement de nos cinq Régions soutenant notre démarche est central et reconnu au niveau national.

De nouvelles perspectives, d'ancrage sur nos territoires, de cohérence par rapport aux évolutions de la recherche et de l'innovation bénéficiant aux patients et à leurs proches s'ouvrent dans cette période de préparation du troisième plan cancer. Nous sommes tous engagés à promouvoir et soutenir nos équipes ouvertes à des collaborations inter-régionales, nationales et trans-frontalières.

Notre FORUM a vocation à rassembler l'ensemble des chercheurs de toute discipline menant des travaux centrés ou possédant des perspectives d'application en oncologie. Il sera, assurément, un temps fort de mobilisation où les échanges et interactions prendront corps comme chaque année.

Bienvenus à cette 7^{ème} édition du Forum du CGE,

| | |
|-----------------------------|--|
| Joseph ABECASSIS | Laboratoire de Biologie Tumorale, Centre Paul Strauss, Strasbourg (réfèrent régional) |
| Frank D. ANTONICELLI | Laboratoire de Recherche en Dermatologie – UFR Médecine, Reims |
| Armand BENSUSSAN | Institut Jean Godinot, Reims |
| Philippe BIREBAUT | Inserm UMR S903, Laboratoire Pol Bouin, CHU Reims (réfèrent régional) |
| Christophe BORG | Service d'Oncologie Médicale du CHU, UMR 1098 INSERM-UFC-EFS Bourgogne Franche-Comté, Besançon (réfèrent régional) |
| Chantal DELVINCOURT | Laboratoire de Biologie Oncologique Institut Jean Godinot, Reims |
| Patrick DUFOUR | Centre Paul Strauss, Strasbourg (réfèrent régional) |
| Eliane MARX | Unité de Psycho-Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg |
| Jean FAIVRE | Inserm U866, Faculté de Médecine, Registre Bourguignon des Cancers Digestifs, Dijon (réfèrent régional) |
| Pierre FUMOLEAU | Centre Georges-François Leclerc, Dijon |
| Francis GUILLEMIN | Université Henri Poincaré Nancy1, Ecole de Santé Publique, Centre d'Epidémiologie Clinique, Hôpital Marin, Nancy (réfèrent régional) |
| Jean-Louis MERLIN | Unité de Biologie des Tumeurs, Centre Alexis Vautrin, Nancy |
| François PLENAT | UHP; Université H. Poincaré, Faculté de Médecine; Vandœuvre-lès-Nancy Cedex |
| Elisabeth QUOIX | Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; Service de Pneumologie ; Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg (animateur du Comité de Cliniciens) |
| Didier TRUCHOT | UFC Laboratoire de Psychologie - Recherches sur l'intentionnalité; Université de Franche-Comté, Besançon |
| Coordination CGE | |
| Pierre OUDET | Directeur Scientifique du CGE |
| Emmanuelle FAIVRE | Chargée de mission scientifique du CGE |
| Rachel GROUBET | Chargée de mission scientifique du CGE |
| Marc GUENNEUGUES | Chargé de mission scientifique du CGE |

| | |
|--|-----------|
| Programme du 7^{ème} Forum | 4 |
| <i>25 novembre</i> | 4 |
| <i>26 novembre</i> | 6 |
| Résumés des interventions et des communications orales | 9 |
| <i>25 novembre</i> | |
| Conférence Introduction | 9 |
| Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS | 9 |
| Recherche Translationnelle (Biomarqueurs, Imagerie, Essais Précoces) | 12 |
| Nouvelles Approches Thérapeutiques | 15 |
| <i>26 novembre</i> | |
| Infections Virales et Cancer | 17 |
| « Omiques » Fonctionnelles des Cancers | 19 |
| Immunité et Cancer | 22 |
| Résumés des posters | 25 |
| Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS | 25 |
| Recherche Translationnelle | 30 |
| Infections Virales et Cancer | 39 |
| « Omiques » Fonctionnelles des Cancers | 39 |
| Immunité et Cancer | 50 |
| Nouvelles Approches Thérapeutiques | 51 |
| Plan de la manifestation | 55 |

Mot de bienvenue

(10h00-10h15)

✿ Région Alsace (Sous réserve) / Pierre OUDET, Directeur Scientifique, CGE

Conférence Introduction

(10h15-11h00)

Patrick DUFOUR (Centre Paul Strauss – Strasbourg)

Vision globale et regards croisés entre organes.

Recherche Translationnelle

(11h00-13h00)

Chairman : Pierre FUMOLEAU

Centre Georges-François Leclerc, Dijon

Sergio ROMAN-ROMAN (Département Recherche Translationnelle, Institut Curie - Paris)

Translational research challenges in uveal melanoma

Communications orales

Camille BOULAGNON (Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire de Reims; FRE CNRS/URCA N°3481, Faculté de Médecine - Reims)

Detection of BRAF V600E gene mutation in colonic adenocarcinomas: Performance of immunohistochemistry using Tissue MicroArray

Stéphanie DELPOUS (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire – Illkirch)

Revisiting TFF1 and TFF3 as biomarkers in breast cancers: a 246 cases study

Stéphanie SERVAGI-VERNAT (Service d'Oncologie Radiothérapie, CHU Jean Minjot, Boulevard Fleming - Besançon)

Escalade de la dose de radiothérapie sur les sous-volumes hypoxiques déterminés par 18F-FAZA TEP dans les cancers des Voies Aéro Digestives Supérieures : Etude de faisabilité.

Luc MERCIER (INSERM U1109 - Strasbourg)

Invisioning Intravasation: from intravital imaging to high resolution 3D analysis of metastatic events

Cocktail déjeunatoire et session de posters

(13h00-14h00)

Indicateurs de santé – Epidémiologie – SHS

(14h00-16h30)

Chairman : Didier TRUCHOT

Laboratoire de Psychologie, EA3188, Université de Besançon

Fabien GIRANDOLA (Laboratoire de Psychologie Sociale, Aix-Marseille Université)

Persuasion et communication engageante appliqués à la prévention du cancer

Les posters de l'axe A seront présentés au cours de cette session.

Communications orales

Benjamin BETHUNE (Inserm, CIC-EC CIE6, Nancy, CHU Nancy, service d'épidémiologie et d'évaluation cliniques, Vandœuvre-lès-Nancy, Université de Lorraine, APEMAC, EA 4360 - Nancy)

Impact des traits de personnalité (optimisme et anxiété-trait) mesurés avant l'intervention chirurgicale sur le changement de l'anxiété-état chez les patientes traitées pour un cancer du sein invasif.

Olivia DIALLA (Breast and Gynaecologic Cancer Registry of Côte d'Or, Centre Georges François Leclerc comprehensive cancer centre - Dijon; EA 4184, Faculty of Medicine, University of Burgundy - Dijon)

In breast cancer, are treatments and survival the same whatever a patient's age? A population-based study over the period 1998-2009

Antoine DROUILLARD (Digestive Cancer Registry of Burgundy; University Hospital - Dijon; INSERM U866; University of Burgundy - Dijon)

Long-term net and conditional survival in colon cancer: A population-based study

MOITRY Marie (Association EVE - Illkirch-Graffenstaden)

Pertinence clinique de la distinction entre frottis cervico-vaginaux entièrement normaux et inflammatoires : suivi à 10 ans de 95 935 frottis

Remise du Prix Master SHS

Pause café et session de posters

(16h30-17h00)

Nos partenaires ont la parole

(17h00-17h15)

Fouzia AOUICHAT, Médecin Régional Oncologie, Laboratoire Boehringer I



Présentation posters

(17h15-18h15)

Les posters présentés au cours de cette session seront les posters de l'axe B: Recherche Translationnelle et Nouvelles Approches Thérapeutiques

Nouvelles Approches Thérapeutiques

(18h15-19h00)

Chairman :

Hélène BURCKEL (Centre de Lutte Contre le Cancer Paul Strauss, EA-3430, Laboratoire de Radiobiologie - Strasbourg)

Nouvelle molécule duale pour la radiochimiothérapie concomitante in cancer therapy

Sascha CONIC (Ecole Supérieure de Biotechnologies de Strasbourg, Biotechnologies des Interactions Macromoléculaires - Illkirch)

Killing of cancer cells with monoclonal antibodies selected against PCNA

Neila CHEKKAT (Faculté de Pharmacie - Université de Strasbourg - Equipe de Biovectorologie - Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives - UMR 7199 CNRS - Illkirch)

Helical oligourea as scaffold to multimerize TRAIL-R2 specific peptides: potential application

Dîner de gala

A partir de 19h30

Le dîner de gala aura lieu au Palais des Congrès, salle CONTADES EST

26 Novembre

Infections Virales et Cancers

(08h30-10h30)

Chairmen : Christine CLAVEL

Inserm UMR S903, Laboratoire Pol Bouin, CHU, Reims

Alain JUNG

Laboratoire de Biologie, Tumorale Centre Paul Strauss, Strasbourg

Antoine TOUZÉ (UMR INRA Infectiologie et Santé Publique, Equipe Virologie et Immunologie Moléculaire, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Tours)

Polyomavirus à cellules de Merkel et nouveaux Polyomavirus.

Véronique DALSTEIN (Laboratoire Pol Bouin: Histologie, Cytologie, Biologie Cellulaire CHU - Reims)

Papillomavirus humains et cancers de l'oropharynx : présentation du projet SPLIT

Michael HERFS (Laboratory of Experimental Pathology, GIGA-CANCER, University of Liege, Liege, Belgium.)

Origin, progression and potential prevention of HPV-related cervical (pre)neoplastic

Communications orales

Elodie HANNS (Laboratoire de Biologie Tumorale, EA3430, CRLCC Paul Strauss - Strasbourg)

Hypoxie intratumorale et adaptabilité à l'hypoxie dans les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures

Adrien MOREL (Université de Franche-Comté, Laboratoire de Biologie Cellulaire / EA 3181 / IFR 133 , CHU Jean Minjoz - Besançon)

Régulation épigénétique des gènes précoces d'HPV16

Les posters de l'axe C seront présentés au cours de cette session.

Pause Café et session de posters

(10h30-11h00)

Immunité et Cancers

(11h00-13h10)

Chairman : Christophe BORG

Service d'Oncologie Médicale du CHU, UMR 1098 INSERM-UFC-EFS Bourgogne Franche-Comté, Besançon

Pedro ROMERO (Ludwig Center for Cancer Research of the University of Lausanne - Suisse)

Romain BOIDOT (Centre Georges-François Leclerc, Département de Biologie et de Pathologie des Tumeurs, Unité de Biologie Moléculaire - Dijon)

Rôle des transcrits alternatifs dans la résistance à l'immunité anti-tumorale et perspectives en immunothérapie : exemple de la Survivine-3B

Olivier ADOTEVI (Université de Franche-Comté, Unité Mixte de Recherche 1098, SFR IBCT - Besançon ; Department of Medical Oncology, University Hospital Jean Minjoz - Besançon)

Modulation of Regulatory T cells in long responsive patients with metastatic renal cell carcinoma (mRCC) treated with everolimus (EVE)

Les posters de l'axe E seront présentés au cours de cette session.

Communications orales

Danièle BENSOUSSAN (CHU de Nancy, Unité de Thérapie cellulaire et Tissus - Vandœuvre-Lès-Nancy; Université de Lorraine, UMR 7365 and FR 3209 CNRS-INSERM - Nancy; Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, Département de Microbiologie-Immunologie - Nancy)

Virus specific cytotoxic T lymphocyte sub-population study

Cocktail déjeunatoire et session de posters**(13h10-14h15)****Nos partenaires ont la parole****(14h15-14h30)****Dominique FAUVEL**, Médecin Régional, Laboratoire Roche**Les « Omiques » Fonctionnelles des Cancers****(14h30-17h00)**Chairmen : **Philippe BIREMBAUT**

Inserm UMR S903, Laboratoire Pol Bouin, CHU, Reims

Cécile ROCHETTE-EGLY

Phosphorylation et activité transcriptionnelle des récepteurs nucléaires des rétinoïdes et interférences avec les voies de signalisation, IGBMC - Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire - Illkirch

Thomas HUSSENET (Inserm U1109 - Strasbourg)*Tenascin-C promotes primary tumor initiation and lung metastatic colonization in an ERBB2 - driven murine model of breast cancer.***Communications orales****Jean-Baptiste DELHORME** (Laboratoire « Voies de signalisation du développement et du stress cellulaire dans les cancers digestifs et urologiques », Unité INSERM 1113, UFR de Médecine, Université de Strasbourg)*Le suppresseur de tumeur Cdx2 augmente la chimiorésistance des cellules cancéreuses coliques au 5-Fluorouracile via le transporteur ABCC11***Benoit LANGLOIS** (Inserm U1109 - Strasbourg)*Angiomatrix, a signature of extracellular matrix components specific to the tumor angiogenic switch, correlates with poor prognosis for human cancer patients***Gabriella PANKOTAI-BODO** (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire - Illkirch)*Ku proteins: New partners of the nuclear retinoic acid receptor alpha***Stéphane RENAUD** (Groupe de transplantation pulmonaire; Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, EA 3430 UdS, Adresse Bâtiment U1113 - Strasbourg)*Rôle de l'hypoxie dans la transition épithélio-mésenchymateuse des cancers bronchiques non à petites cellules**Les posters de l'axe D seront présentés au cours de cette session.***Prix des Jeunes Chercheurs****(17h00-17h15)****Clôture du Forum****(17h15-17h30)**

Pierre OUDET, Directeur Scientifique, CGE



Conférence Introduction

Vision globale et regards croisés entre organes

Auteur : Patrick DUFOUR

Oncologue médical, Directeur du Centre Régional de Lutte Contre le Cancer, Paul Strauss, Strasbourg

E-mail : pdufour@strasbourg.unicancer.fr

Résumé

Les cancers sont une entité particulièrement hétérogène en termes d'origine, de pronostic, d'histoire naturelle et de thérapeutiques. Leur classification a évolué au cours des millénaires et cette nosologie est un témoignage d'une approche d'abord empirique puis progressivement tissulaire et enfin physiopathologique. Les premières descriptions des tumeurs remontent à plus de deux millénaires avant Jésus Christ et sont tracées dans les papyrus de Kahun et surtout d'Ebers dans lesquels Imhotep distingue les tumeurs infectieuses, fluctuantes qu'il convient d'inciser des tumeurs charnues qu'il faut extirper. Dix huit siècles plus tard, Galien, dans son *Traité des Tumeurs* (2^{ème} siècle après JC) établit une classification basée sur l'évolution clinique et la théorie des humeurs ; il différencie les tumeurs « normales » suivant la nature, les tumeurs inflammatoires dépassant la nature et les tumeurs contre nature qui regroupent de façon rétrospective les cancers et certaines tumeurs bénignes. Mais c'est Xavier Bichat qui, au XVIII^{ème} siècle, va bouleverser cette approche en publiant en 1802 son *Traité d'anatomopathologie* ; les tumeurs ne sont plus alors déterminées par leur aspect clinique ou leur évolution, on ne parle plus de « cancers ouverts » ou de « cancers fermés » puisqu'ils peuvent émaner du même tissu. Les tumeurs sont classées selon l'organe d'origine et le tissu d'origine. Les progrès liés à l'utilisation du microscope et de l'augmentation progressive de son pouvoir de résolution vont permettre de passer de données macroscopiques à des données cellulaires. Les tumeurs malignes sont classées en 2 groupes : les sarcomes et les épithéliomes ou sarcome. Cette nouvelle approche tourne la page d'une théorie vieille de plus de 2000 ans, celle des humeurs. Dans le même temps, l'histoire naturelle des cancers est démembrée ce qui change les stratégies thérapeutiques. Mais les années 50 voient l'apparition d'une nouvelle révolution : la révolution moléculaire ; en 1953 Watson et Crick découvrent l'ADN et en 1976 Bishop et Varmus découvrent les oncogènes. C'est un nouveau bouleversement dans la compréhension de la cancérogénèse, le cancer est lié à des altérations géniques successives. Ces données débouchent actuellement sur une classification des cancers basée non plus sur des données cellulaires ou tissulaires, mais sur les caractéristiques biomoléculaires et ouvrent la voie à des approches thérapeutiques totalement innovantes basées sur la personnalisation du traitement aussi bien sur le plan de l'efficacité que du contrôle des effets secondaires.

On voit qu'au cours de plus de 30 siècles, la nosologie des cancers s'est modifiée dans deux sens, d'abord basée sur les constatations cliniques, elle a évolué vers des approches cellulaires et moléculaires avec chaque fois un retour vers le malade et son traitement. Cette démarche illustre parfaitement que ces différents morcellements au cours du temps ne sont en fait que la traduction d'une évolution de nos connaissances et reflètent l'un après l'autre la fragilité des dogmes.

Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS

Persuasion et communication engageante appliqués à la prévention du cancer

Auteur : Fabien GIRANDOLA

Laboratoire de Psychologie Sociale, Aix-Marseille Université

E-mail : fabien.girandola@univ-amu.fr

Résumé

Les recherches en psychologie sociale montrent que, le plus souvent, les campagnes d'information ou de sensibilisation ne produisent pas les effets attendus sur les comportements : par exemple, on sait que le tabac tue mais on ne diminue pas pour autant sa consommation. Les Sciences Humaines et, plus particulièrement, la psychologie sociale proposent deux champs de recherches portant sur le changement des opinions et de comportement : le champ de la communication persuasive d'une part (« *Comment convaincre autrui ?* »), le champ de l'engagement comportemental d'autre part (« *Comment changer le comportement d'autrui ?* »). L'objet de la communication est de montrer, dans le cadre de la prévention du cancer, les possibilités de changement d'intention et de comportement basés sur a/ la communication persuasive b/ l'engagement et la communication engageante (i.e., engager puis convaincre) notamment en y associant les croyances ou représentation sociales d'un groupe donné (« *Que pensent du cancer les individus appartenant au groupe étudié ?* »). Les résultats obtenus permettent de mieux comprendre la résistance au changement et montrent l'efficacité de ces techniques tant sur le plan des idées que des comportements. De nouvelles pistes de recherches théoriques et appliquées seront proposées dans le cadre de la prévention.

Communications orales

Impact des traits de personnalité (optimisme et anxiété-trait) mesurés avant l'intervention chirurgicale sur le changement de l'anxiété-état chez les patientes traitées pour un cancer du sein invasif

Auteurs : Benjamin Bethune^{b,c,d}, C. Rotonda^{a,b,c,d}, F. Guillemain^{a,b,c,d}, F. Bonnetain^{a,e,f}, M. Velten^{a,g,h}, E. Spitzⁱ, T. Conroy^{a,d,j}

^a Plateforme Qualité de Vie et Cancer, France

^b Inserm, CIC-EC CIE6, Nancy, F-54000, France

^c CHU Nancy, service d'épidémiologie et d'évaluation cliniques, Vandœuvre-lès-Nancy, F-54505, France

^d Université de Lorraine, APEMAC, EA 4360, Nancy, F-54000, France

^e Université de Franche-Comté, EA 3181, SFR 4234, Besançon, F-25030, France

^f CHU Besançon, Unité Méthodologique et de Qualité de Vie en Cancérologie, Besançon, F-25000, France

^g Université de Strasbourg, laboratoire d'épidémiologie et de santé publique, EA 3430, Strasbourg, France

^h Centre Paul Strauss, service d'épidémiologie et de biostatistique, Strasbourg, France

ⁱ Université de Lorraine, Université Paris Descartes, Apemac EA 4360, Metz, F-54 000, France

^j Institut de cancérologie de Lorraine - Alexis Vautrin, département d'oncologie médicale, Vandœuvre-lès-Nancy, F-54519, France

E-mail : benjamin.bethune@yahoo.fr

Résumé

CONTEXTE: L'anxiété est une réaction habituelle lors d'un diagnostic de cancer. La manière dont elle est vécue est très variable selon chaque patient. De plus, elle peut être soit un trait de personnalité soit un état transitoire survenant dans certaines circonstances. Notre objectif est de déterminer si les traits de personnalité (anxiété-trait et optimisme) des patientes atteintes d'un cancer du sein invasif peuvent prédire le changement d'anxiété-état mesurée tout au long de leur prise en charge.

METHODE: Il s'agit d'une étude longitudinale multicentrique de patientes atteintes d'un cancer du sein invasif. Les patientes ont complété un questionnaire d'optimisme (LOT) et d'anxiété-trait (STAI Y-B) avant la chirurgie (à l'inclusion) et un questionnaire d'anxiété-état (STAI Y-A) lors des suivis après la chirurgie. L'association entre les variables d'intérêt (i.e. sociodémographiques, cliniques et traits de personnalité) et l'évolution de l'anxiété-état a été étudiée en analyse de variance à mesures répétées.

RESULTATS: Entre Août 2008 et Janvier 2011, 466 patientes ont été incluses et suivies pendant 2 ans. Les patientes avec une anxiété-trait élevée et un faible optimisme avaient un plus haut niveau d'anxiété-état tout au long du suivi. En modélisant les deux facteurs séparément, nous avons montré une forte association significative entre chaque trait de personnalité et l'évolution de l'anxiété-état. En les modélisant ensemble, l'association entre l'évolution de l'anxiété-état et l'optimisme était beaucoup plus faible que celle avec l'anxiété-trait. Nous supposons alors qu'un phénomène de compétition existe entre les deux traits. Néanmoins, aucune interaction entre eux n'a été retrouvée. Aucune des variables socio-démographiques et cliniques n'a été retrouvée significativement associées à l'évolution de l'anxiété-état ajustée sur les traits de personnalité.

DISCUSSION: Les patientes avec un haut niveau d'anxiété-trait sont à risque de conserver un niveau élevé d'anxiété-état tout au long de leur prise en charge. Le questionnaire STAI Y-B permettrait de dépister ces patientes afin de leur offrir un soutien psychologique adapté.

⁷Department of Medical Oncology, Centre Georges François Leclerc comprehensive cancer centre, 1 rue Professeur Marion BP 77980, 21079 Dijon Cedex, France.

⁸Biostatistics and Quality of Life Unit, Centre Georges François Leclerc comprehensive cancer centre, 1 rue Professeur Marion BP 77980, 21079 Dijon Cedex, France.

*Contributed equally

E-mail : odialla@cgfl.fr

Résumé

Background: In recent years, variations in breast cancer treatment and prognostic factors with age have become an important issue. This study aimed to describe treatments, relative survival and prognostic factors in breast cancer patients according to age using all cases diagnosed between 1998 and 2009 in the department of Côte d'Or.

Methods: A population-based study was performed using data from the Côte d'Or breast and gynaecological cancer registry. Variations in treatments administered according to age (74 years) and period was assessed using Cochran-Armitage trend tests and Chi2 tests, respectively. Prognostic factors according to age were estimated using a generalized linear model with a Poisson error structure.

Results: Overall, 4305 patients were included. Median age at diagnosis was 60. The oldest women (aged >74 years) were more likely than the youngest ones to have comorbidities, advanced stage tumours, hormone receptor-positive tumours (HR+) and C-erb-2 negative. The use of adjuvant chemotherapy decreased with age while the proportions of women without treatments, without surgery and with adjuvant hormone therapy increased with age. Multivariate RS analyses according to age showed an increased risk of death in women aged 50-74 and >74 years old with comorbidities compared with those without comorbidities; relative excess risks (RER) were 1.85 [1.13-3.02] and 3.23 [1.26-8.31] respectively. In contrast, a decreased risk of death was observed in women aged 50-74 years old diagnosed by medical imaging compared with those diagnosed by clinical signs; RER=0.44 [0.22-0.89].

Discussion: Elderly women compared with the youngest ones were diagnosed with more favourable tumour biology (HR+, C-erb-2 negative). However, survival was poor in elderly women who had comorbid conditions, did not attend screening mammography examinations, and were less likely to receive standard combination therapy.

In breast cancer, are treatments and survival the same whatever a patient's age? A population-based study over the period 1998-2009

Auteurs : Pegdewende Olivia DIALLA^{1,2*}, Valerie QUIPOURT³, Julie GENTIL^{1,2}, Sophie MARILIER³, Marie-Laure POILLOT^{1,2}, Patrick ROIGNOT⁴, Thierry ALTWEGG⁵, Ariane DARUT-JOUVE⁵, Séverine GUIU⁷, Patrick ARVEUX^{1,2}, Tienhan Sandrine DABAKUYO-YONLI^{2,8*}.

¹Breast and Gynaecologic Cancer Registry of Côte d'Or, Centre Georges François Leclerc comprehensive cancer centre, 1 rue Professeur Marion BP 77980, 21079 Dijon Cedex, France.

²EA 4184, Faculty of Medicine, University of Burgundy, Dijon, France.

³Coordination Unit in Geriatric oncology in Burgundy, Hôpital de jour Gériatrique, Hôpital de Champmaillot, 2 rue Jules Violle, 21079 Dijon Cedex, France.

⁴Pathology Centre, 33 rue Nicolas Bornier, 21000 Dijon, France.

⁵Radiotherapy Centre of Park, 18 cours du Général de Gaulle, 21000 Dijon, France.

⁶Private hospital Clément-Drevon, 9 rue Princes de Condé, 21000 Dijon, France.

Long-term net and conditional survival in colon cancer: A population-based study

Auteurs : Antoine DROUILLARD*, Anne-Marie BOUVIER, Fabien ROLLLOT, Jean FAIVRE, Valérie JOOSTE, Côme LEPAGE

*Digestive Cancer Registry of Burgundy; University Hospital Dijon, F-21079; INSERM U866; University of Burgundy, Dijon, BP 87900, 21079 Dijon Cedex France

E-mail : antoinedrouillard@hotmail.com

Résumé

Introduction : The aim of this study was to provide both long-term net and conditional survival for patients with colon cancer in a French well-defined population in order to describe and understand survival changes over time in particular by stage of diagnosis.

Methods : 14,055 colon cancers diagnosed between 1976 and 2008 were included. Net survival was defined as survival which would occur if cancer was the only cause of death. It was estimated by Pohar Perme estimator. A nonlinear and non-proportional multivariate model was used to investigate the effect of stage and period of diagnosis on survival. Conditional 5 year net survival was calculated for every additional years survived after diagnosis from 1 to 6 years.

Results : Five- and 10-year net survival was respectively 51.6% and 41.7%. Age, period of diagnosis, and stage at diagnosis were major determinants of net survival. The improvement over time of net survival was mainly seen during the year following diagnosis for stages I and II, while for stage III net survival continued to improve up to 5 years after diagnosis. Excluding mortality during the first 3 months (related to operative mortality and late presentation) reduced the gap between age groups, periods and stage at diagnosis. Conditional probability of surviving an additional 5 years increased with the time elapsed since the diagnosis. Stage I to III patients who survived 6 years had a similar probability of surviving 5 more years. The increase in 5-year conditional net survival was particularly marked for poor prognosis stages. It was 70.2% for 6 years advanced stage survivors.

Discussion : Substantial improvements in survival of colon cancers are reported, in particular a general improvement by stage over time. It is mainly due to the decrease of the first three months mortality. Conditional net survival provides relevant prognostic information as time since diagnosis progresses. It should become more common in cancer reporting.

Pertinence clinique de la distinction entre frottis cervico-vaginaux entièrement normaux et inflammatoires : suivi à 10 ans de 95 935 frottis

Auteurs : Marie Moitry¹, Muriel Fender¹, Jérémie Jégu^{2,3}, Jean-Jacques Baldauf^{1,4}

1 Association EVE, 69 Route du Rhin, 67400 Illkirch-Graffenstaden, France.

2 Registre des cancers du Bas-Rhin, Laboratoire d'Epidémiologie et de Santé Publique, EA3430, FMST, Université de Strasbourg, 4 rue Kirschleger, 67085 Strasbourg, France.

3 Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 1 place de l'hôpital, 67091 Strasbourg, France.

4 Service de gynécologie-obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 1 Avenue Molière, 67098 Strasbourg, France.

E-mail : marie.moitry@dbmail.com

Résumé

Contexte : En Alsace, le dépistage du cancer du col de l'utérus est organisé par l'association EVE. Dans ce cadre, contrairement à la nomenclature de référence Bethesda 2001, le code utilisé par les laboratoires de la région distingue les frottis inflammatoires et dystrophiques (code EVE20) des frottis entièrement normaux (code EVE10). L'objectif de cette étude était de savoir si, après 10 ans de suivi, le risque de survenue d'une lésion histologique du col de type CIN2 ou plus avancée (CIN2+) était augmenté chez les femmes avec un frottis EVE20.

Méthodes : Tous les frottis EVE10 et EVE20 réalisés dans le Bas-Rhin et enregistrés par l'association EVE durant l'année 2001 ont été inclus. Le suivi était étendu sur une période de 10 ans à partir du frottis initial. Les effectifs en termes de personnes-temps à risque ont été calculés. L'augmentation du risque de survenue d'une lésion CIN2+ et d'un cancer dans le groupe EVE20 a été étudiée via le calcul des incidences cumulées et du risque relatif (RR).

Résultats : L'étude concernait 95 935 frottis, dont 65 022 dans le groupe EVE10 (67,8%) et 30 913 dans le groupe EVE20 (32,2%). Au total, 728 lésions CIN2+ ont été observées, dont 54 lésions cancéreuses. Après 10 ans de suivi, le risque de lésion de type CIN2+ était augmenté de 36% (RR = 1,36 IC95% = 1,17 - 1,58) chez les femmes ayant un frottis initial inflammatoire ou dystrophique par rapport aux femmes ayant un frottis entièrement normal. En revanche, le risque de cancer chez les femmes du groupe EVE20 n'était pas augmenté de façon significative (RR = 1,01 IC95% = 0,58 - 1,79).

Discussion : l'augmentation du risque de survenue de lésion CIN2+ observée chez les femmes ayant un frottis initial inflammatoire ou dystrophique après 10 ans de suivi semble justifier cliniquement la distinction faite dans les laboratoires d'Alsace. L'absence d'augmentation du risque de cancer est en faveur d'une efficacité du dépistage des lésions cervicales précancéreuses.

Recherche Translationnelle

Translational research challenges in uveal melanoma

Auteur : Sergio ROMAN-ROMAN

Chef de département Recherche Translationnelle, Institut Curie - Paris

E-mail : sergio.roman-roman@curie.fr

Résumé

Uveal melanoma (UM) is the most frequent and aggressive ocular primary tumor in adults with 5 new cases per million per year. Despite the advances in the treatment of primary tumors up to 50% of patients develop metastasis predominantly in liver. There is no standard adjuvant treatment to prevent metastasis and no effective therapy at the metastatic setting. UMs at high risk for metastasis are associated to monosomy of chromosome 3, loss of 6q and gain of 8q. We have recently demonstrated that uveal melanomas display a remarkably low mutation burden with ~2000 predicted somatic single nucleotide variants per tumor and low levels of aneuploidy. Moreover no ultraviolet radiation DNA-damage signature has been found in UM. Mutually exclusive mutations in the GNAQ/11 genes activating the MAP kinase pathway have been described in the majority of UM. Although GNAQ/11 mutational status is not correlated with disease-free survival, these mutations are considered as oncogenic drivers and consequently potential good targets for therapeutic intervention. Inactivating mutations in the tumor suppressor *BAP1* occur in ~85% of metastatic tumors and are associated with tumor progression metastatic disease. Recently exome and whole genome sequencing of uveal melanomas identified recurrent mutations in SF3B1 which encodes a component of the spliceosome and in translation initiation factor EIF1AX. The SF3B1 and EIF1AX mutations are inversely associated with chromosome 3 monosomy and associated with good prognosis. Several teams at Institut Curie are actively working in different aspects of UM biology (genetics, epigenetics, cell signaling ...) with the goal of improving prognosis, follow-up, and treatment of this disease. We will present here our last results concerning the translational aspects of this multidisciplinary research.

Communications orales

Detection of BRAF V600E gene mutation in colonic adenocarcinomas: Performance of immunohistochemistry using Tissue MicroArray

Auteurs : Camille Boulagnon* ^(1,2), Oriane Dudez ⁽¹⁾, Olivia Beaudoux ^(3,4), Véronique Dalstein ^(4,5), Reza Kianmanesh ⁽⁶⁾, Olivier Bouché ⁽⁷⁾, Marie-Danièle Diebold ^(1,2).

(1) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire de Reims. (2) FRE CNRS/URCA N°3481, Faculté de Médecine de Reims, (3) Laboratoire de Biologie Oncologique, Institut Jean Godinot, Reims, (4) Plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers de Champagne Ardenne, (5) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Pol Bouin, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, (6) Service de Chirurgie Digestive, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, (7) Service d'Hépatogastro-Entérologie et Cancérologie Digestive, Centre Hospitalier Universitaire de Reims

E-mail : cboulagnon-rombi@chu-reims.fr

Résumé

Background: The *BRAF* oncogene is frequently mutated in various neoplasms with different clinical, prognostic and therapeutic involvement. Detection of *BRAF* mutation in colorectal cancer (CRC), has several clinical applications: enabling the discrimination of sporadic colorectal carcinoma *versus* Lynch syndrome related CRC, determining the absence of non-response factor to EGFR inhibitor therapy and providing warning of a poorer prognosis. Few immunohistochemical studies using whole tissue tumor section staining were recently performed on colorectal cancer. The aim of this study is to evaluate the sensibility and specificity of *BRAF*V600E mutation detection using Tissue Microarray immunohistochemistry.

Design: Immunohistochemistry was performed with the *BRAF*V600E-specific VE1 antibody by using Tissue Microarray on 86 colonic adenocarcinomas with known *BRAF*V600E status. In these cases *BRAF*V600E was previously searched by using TaqMan real time PCR for diagnosis or therapeutic purpose. Immunostaining was interpreted by three pathologists blind for other interpretations and for molecular biology results.

Results: Staining with *BRAF*V600E-specific antibody allowed to detect 20/21 *BRAF*V600E mutated colonic adenocarcinoma and 60/65 *BRAF* wild-type cases. The staining was doubtful because of equivocal faint staining in 4 cases and of heterogeneity across the cores in 3 cases. When compared to molecular technique, the sensibility and specificity were respectively 95.2% and 92.3%. Immunostaining on whole section of the doubtful cases improved sensibility and specificity to 100% and 95.4% respectively. Agreement of interobserver reproducibility was almost perfect ($\kappa = 0.83$).

Conclusions: Detection of *BRAF*V600E by immunohistochemistry using Tissue Microarray can be used to screen *BRAF*V600E-mutated colonic carcinomas. Cases with equivocal or heterogenous staining must be studied on whole section. Molecular reference techniques such as sequencing can be reserved to persistent doubtful cases.

Revisiting TFF1 and TFF3 as biomarkers in breast cancers: a 246 cases study

Auteurs : Stéphanie Delpous*, Nathalie Reix, Alexandre Welsh, Corinne Wendling, Fabien Alpy, Jean Marc Lessinger, Marie Pierre Chenard, Marie Christine Rio, Catherine Tomasetto, Carole Mathelin

*Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC) - Illkirch

E-mail : delpous@igbmc.fr

Résumé

Background: A better knowledge of mammary tumorigenesis allows the development of personalized patient care. For example, adjuvant chemotherapy is not justified for all patients. While it is beneficial for those at high risk of relapse, it might be detrimental for other patients. This therapeutic decision is based on several criteria and can be difficult in some cases. Therefore, it is necessary to develop new tools predicting risk of recurrence in early stage breast cancer. TFF1 and TFF3 proteins represent potential biomarkers. Indeed, TFF1 and TFF3 are two related proteins induced by estradiol, and expressed at high levels in some breast cancers. Studied in isolation, their value as prognostic markers remains controversial. Our objective is to evaluate the prognostic potential value of combined TFF1 and TFF3 dosages.

Materials and methods: We analyzed by Western Blot (WB) both TFF1 and TFF3 expression in a prospective cohort of 246 human invasive breast carcinomas. In parallel, TFF1 and TFF3 expression was measured by ImmunoHistoChemistry (IHC) in 109 of them. An immunoscore for WB and a histoscore for IHC were established. Associations between TFF1 and TFF3 expressions with various clinico-pathological features were determined using GraphPad software.

Results: Immunoscores and histoscores were significantly correlated both for TFF1 and for TFF3. Both methods appear complementary since IHC is highly sensitive and WB is highly specific. Unexpectedly, there is not a complete overlap between TFF1 and TFF3 expression in breast cancers. Tumors double positive for TFF1 and TFF3 were associated with lympho-vascular invasion and lymph node involvement compared to TFF1 or TFF3 simple positive tumors.

Conclusion: In contrast with previous published reports, TFF1 and TFF3 can be expressed independently from each other. Of interest, this study indicates that TFF1 and TFF3 may distinguish subtypes within the luminal group. Recent functional data showed TFF1 and TFF3 are involved in cell migration and invasion. In addition, a microarray study showed TFF1 and TFF3 were in a five-gene signature predicting bone metastasis. Along the same line, our results show TFF1 and TFF3 expression are associated with some poor prognostic indicators. Taken together, these data suggest the TFF1 and TFF3 double positive tumors should be considered for adjuvant chemotherapy. They definitively show TFF1 and TFF3 expression in breast cancer merits further investigation on larger cohorts.

Escalade de la dose de radiothérapie sur les sous-volumes hypoxiques déterminés par 18F-FAZA TEP dans les cancers des Voies Aéro Digestives Supérieures : Etude de faisabilité.

Auteurs : Stéphanie Servagi Vernet¹, Hanin F², Bol A², Labor D², Lee J², Gregoire V².

1 Service d'Oncologie Radiothérapie, CHU Jean Minjot, Boulevard Fleming, 25000 BESANÇON

2 Department of Radiation Oncology, Molecular Imaging, Radiotherapy and Oncology (MIRO) Lab., Université catholique de Louvain, Cliniques universitaires St-Luc, Brussels, Belgium

E-mail : stephanie.servagi@gmail.com

Résumé

Introduction : L'hypoxie tumorale dans les cancers des Voies Aéro Digestives Supérieures (VADS) est une cause de radio-résistance et de diminution du contrôle loco-régional bien documentée. Parmi différentes méthodes de détermination de l'hypoxie tumorale, le recours à des traceurs nitroimidazolés marqués par un émetteur positron et détectés par TEP est bien validé en clinique humaine. Cette méthode non-invasive permet outre une quantification du signal, une visualisation de l'hétérogénéité tumorale. Elle peut en outre être répétée en cours de traitement.

Les objectifs de cette étude de faisabilité étaient :

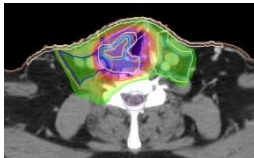
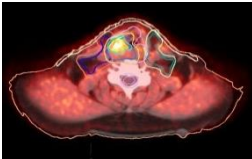
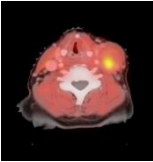
- 1) d'individualiser des zones d'hypoxie à partir du 18F-FAZA TEP/CT, au sein de la tumeur primitive (T) et des adénopathies envahies avant traitement (N),
- 2) d'évaluer la faisabilité d'une escalade de dose de radiothérapie sur ces zones hypoxiques,
- 3) et de voir l'évolution de ces différentes zones hypoxiques en cours de radio-chimiothérapie concomitante dans le cadre d'une radiothérapie adaptative

Matériels et méthodes :

De novembre à juillet 2013, 12 patients porteurs d'un cancer des VADS localement avancé ont été inclus prospectivement. Le 18F-FAZA TEP/CT a été réalisé 1 semaine avant le début de la radio-chimiothérapie (70 Gy en 35 fractions de 2 Gy, 5x par semaine et 1 cure de chimiothérapie lors des semaines 1, 4 et 7), en position de traitement et avec un système de contention (masque 5 points). Trois cent soixante dix MBq de 18F-FAZA ont été injectés. Une acquisition TEP-CT de 10 minutes par position de lit a été réalisée 2 heures après l'injection. Cet examen a été reconduit dans les mêmes conditions à la fin de la 1ère et de la 3ème semaine de traitement. Les images ont été analysées sur PMod® pour déterminer les SUV moyenne, min, max dans la T et le N. Un voxel hypoxique a été défini comme un voxel dont l'activité était supérieure à la SUV moyenne dans le muscle long du cou controlatéral à la T ou au N + 3 déviations standard (DS). Les images ont ensuite été segmentées sur MIM Vista® pour obtenir un Gross Tumor Volume T et/ou N hypoxique (GTVhypoxie) et qui correspond aux voxels ayant une SUV \geq au seuil d'hypoxie défini pour chaque patient. L'optimisation a été réalisée sur Tomotherapy Hi Art®, avec une prescription en SIB de 56, 70 Gy sur les PTV bas et haut risque et 86 Gy sur le GTVhypoxie T et N avec une marge additionnelle. Les déformations de contours, de dose et l'addition de la dose totale a été réalisées à partir de MIM Vista®.

Résultats : Dix patients présentaient un sous volume hypoxique à l'inclusion. La médiane de la fraction hypoxique était de 14,54 % (de 4 à 54,29 %) dans la tumeur primitive et de 26,63 % (de 9,6 à 41,4 %) dans le ganglion envahi. La médiane de la SUVmax était de 2,27 dans le GTVT et de 2,29 dans le GTVN. La médiane du seuil de SUV définissant l'hypoxie était de 1,52. En cours de traitement, tous les patients ont diminué leurs fractions hypoxiques et leurs SUVmax. Seul 3 patients présentaient des nouveaux voxels hypoxiques (newborns) après 17 fractions. L'optimisation sur TomoTherapy Hi Art® a permis de délivrer en technique SIB 3 niveaux de dose 56, 70 et 84 Gy tout en préservant les organes à risque (OAR). Les plans de traitement ont été adapté en fonction de l'apparition de voxels hypoxiques en cours de traitement pour chaque voxel hypoxique reçoive une dose totale de 86 Gy (radiothérapie adaptative) tout en préservant les OAR.

Conclusion : L'individualisation des zones hypoxiques au sein de la tumeur primitive et du ou des adénopathies envahies par l'intermédiaire du 18F-FAZA TEP CT permet de sélectionner des patients au pronostic défavorable. Des études sont en cours pour évaluer la faisabilité d'une escalade de dose et d'une réadaptation en cours de traitement (radiothérapie adaptative) afin d'augmenter le contrôle loco-régional dans cette population.



Invisoning Intravasation: from intravital imaging to high resolution 3D analysis of metastatic events

Auteurs : Luc Mercier^{1,*}, Matthia Karreman^{2,*}, Yannick Schwab^{2,#} and Jacky G. Goetz^{1,#}

* : equal contribution

: co-corresponding authors: schwab@embl.de; jacky.goetz@inserm.fr

1. INSERM U1109, 67200 Strasbourg (FRANCE)

2. European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg D-69117 (Germany)

E-mail : mercier.lu@gmail.com

Résumé

Metastasis is the main cause of cancer mortality, and an important target for therapeutics. The major events in cancer metastasis involve detachment of cells from the tumor (invasion), intrusion into vessels (intravasation), circulation, exit from the vessel, and secondary site colonization. There is currently no method allowing correlation of tumor cell behavior to its most detailed architecture. We aim to image the ultrastructural alterations to the cancer cells and their microenvironment that enable their invasion and intravasation. Herein, we describe a correlative approach, combining intravital imaging and electron microscopy, allowing capturing these rare events. We developed a xenograft model where fluorescent cancer cells are injected subcutaneously into the mouse ear and then imaged using two-photon-excitation microscopy. We focused here on cancer cells exhibiting an invasive morphology and located near blood vessels. Near-infrared branding (NIRB) is used to mark this imaged area: using laser irradiation, a square is drawn at the skin level, just above the region of interest (ROI), allowing full preservation of this area. The distance from the NIRB square to the ROI is then used as a guide to locate the ROI in a later stage. Herein, we show that we successfully retrieve the ROI from several samples. The concerted usage of the positioning of hair follicles and the NIRB square as landmarks enables determining and approaching the position of the ROI while serial sectioning through the specimen. Finally, the cancer cells can be imaged at high resolution and detailed analysis of the cells' ultrastructure.

In conclusion, we show here how we could track an interesting cellular behavior imaged *in vivo* using a correlative imaging approach. The tedious and time-consuming process represents a first step in our work to develop an automated workflow for high-throughput, high resolution, 3D analysis of the dynamic steps of cancer metastasis.

Nouvelles Approches Thérapeutiques

Communication orale

Nouvelle molécule duale pour la radiochimiothérapie concomitante

Auteurs : Hélène Burckel¹, Elodie Josset ¹, Pierre Bischoff ¹, Alain Wagner ², Georges Noël ¹.

¹ Centre de Lutte Contre le Cancer Paul Strauss, EA-3430, Laboratoire de Radiobiologie, Strasbourg, France.

² Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Systèmes chimiques Fonctionnels, Illkirch, Strasbourg, France.

E-mail : hburckel@strasbourg.unicancer.fr

Résumé

Contexte :

La résistance des cellules tumorales aux radiations ionisantes (RI) est à l'origine de nombreux échecs en radiothérapie. Une possibilité pour la contourner est d'associer concomitamment à la radiothérapie, des agents chimiothérapeutiques. Notre hypothèse est que de tels composés pourraient à la fois créer des dommages à l'ADN, amplifier ceux causés par les RI et inhiber le processus de réparation par excision de base (BER). Ainsi, notre projet a consisté à synthétiser une molécule duale composée d'un complexe de platine (Pt) et d'un inhibiteur de la PARP (phénanthridinone).

Matériels et Méthodes :

La fixation du complexe de platine sur l'ADN a été validée sur le plasmide pUC18 par une technique d'électrophorèse sur gel d'agarose. L'activité PARP a été évaluée sur enzyme et in cellulo. La cytotoxicité in vitro a été analysée sur la lignée cellulaire radiorésistante SK-Hep1 par un test à la sulforhodamine B.

Résultats :

La relaxation du plasmide entre sa forme super-hélicoïdale et sa forme relaxée induite par le platine, a permis de valider l'interaction directe Pt-ADN. La capacité de la molécule duale à inhiber la PARP a été mesurée sur enzyme pour donner une CI50 de 1,2 µM. De plus, des analyses in cellulo, ont permis de valider la pénétration cellulaire de la molécule duale. Les analyses in vitro ont montré une cytotoxicité de la molécule duale supérieure au Pt seul ou aux deux molécules non liées avec et sans les RI.

Conclusions :

La molécule duale a ainsi conservé les deux activités chimiothérapeutiques et sa taille lui permet de pénétrer les cellules. Ces résultats prometteurs indiquent qu'une augmentation de radiosensibilité peut être provoquée par l'effet simultané de dommages à l'ADN et du blocage de la voie de réparation BER. Ces résultats ont permis de confirmer un design, une synthèse ainsi qu'une évaluation d'un nouvel agent anticancéreux potentiel.

Helical oligourea as scaffold to multimerize TRAIL-R2 specific peptides: potential application in cancer therapy

Auteurs : Neila Chekkat, Neil Owens, Gabrielle Zeder-Lutz , Danièle Altschuh, Gilles Guichard, Sylvie Fournel

Faculté de Pharmacie - Université de Strasbourg - Equipe de Biovectorologie - Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives - UMR 7199 CNRS - 74 route du Rhin 67401 ILLKIRCH Cedex

E-mail : n.chekkat@etu.unistra.fr

Résumé

Activation of apoptotic pathway in tumor cells by triggering death receptors that belong to the Tumor Necrosis Factor Receptor (TNF-R) family represents an attractive therapeutic strategy. Within this family, the Tumor Necrosis-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL) has the unique characteristic of inducing apoptosis in a wide variety of cancer cells, while sparing the normal cells. TRAIL, like other TNF family members, binds as a homotrimer to its receptors. Four membrane-bound TRAIL specific receptors have been described: two death receptors DR4 and DR5 that mediate the apoptogenic signal and two decoy receptors DcR1 and DcR2 that act as inhibitory receptors. Currently, recombinant TRAIL or agonistic TRAIL-receptor antibodies are tested in clinical trials. We propose a peptide-based strategy to activate the TRAIL pathway for cancer therapy. Recently, we reported on small apoptogenic peptides that bind DR5 and induce tumor cell apoptosis in vitro and in vivo in xenograft models. As it is well established that DR5 oligomerization is necessary for activation of TRAIL signaling in the present work, we used helical oligourea scaffold to multimerize the DR5 specific peptide and therefore to increase its apoptogenic effect. The helical oligourea scaffold are foldamers that remind of small proteins in terms of size and complexity, and allow the binding of numerous peptides on each helices and therefore increase the valence of the ligand5. Up to now we obtained helical structures bearing monomer, dimer and trimer of the DR5 specific peptide.

Experiments in Surface Plasmon Resonance (SPR) technology revealed that the various helical structures bind selectively to DR5 receptor with an increase of the binding affinity with the oligomerization of the DR5 specific peptide. Using a BJBAB cell line model (Burkitt lymphoma) consisting of cells that express (BJBAB DR5+) or lack (BJBAB DR5-) DR5 receptor, we showed that helical structures bearing dimer or trimer of DR5 specific peptide induced apoptosis in the BJBAB DR5+ cells and, as expected, had no effect in the BJBAB DR5- cells. Helical structures bearing monomer had no effect in BJBAB DR5+ cell lines. In the near future, the helical structures bearing peptide dimer and trimer, will be evaluated for their anti-tumoral effect in vivo in xenograft models of human HCT116 colon carcinoma cells. With these new helical structures, we will develop entirely synthetic structures mimicking the apoptotic effect of oligomeric protein with potential application in cancer therapy.

Killing of cancer cells with monoclonal antibodies selected against PCNA

Auteurs : Sascha Conic, Dominique Desplancq, Jerome Wagner, Célia Guilini, Etienne Weiss

Ecole Supérieure de Biotechnologies de Strasbourg, Biotechnologies des Interactions Macromoléculaires, Parc d'Innovation, Bld Sébastien Brant, BP 10413, 67412 Illkirch Cedex

E-mail : etienne.weiss@unistra.fr

Résumé

The proliferating cell nuclear antigen (PCNA) plays a central role in many processes like DNA-replication or DNA-repair to maintain genome integrity in proliferating cells. The survival of cancer cells strongly relies on these processes and therefore PCNA represents a potential target in these cells. A new possibility to treat cancer would be the use of monoclonal antibodies that can block the functions of PCNA in living cells. We generated monoclonal antibodies against PCNA and characterized their behavior either *in vitro* or *in cellulo*. Within six different clones that were able to specifically bind native PCNA, one could inhibit DNA synthesis *in vitro*. This antibody named 4D6 was delivered into living cancer cells by electroporation and was capable to bind to endogenous PCNA in the nucleus. Furthermore, after prolonged incubation of cells treated with 4D6 and anti-PCNA siRNA, cell death was observed. These results show that PCNA is an intracellular target that can be neutralized with monoclonal antibodies following transduction. It represents a new possibility to treat cancer cells and thus a new approach for the use of monoclonal antibodies in therapy.

Infections Virales et Cancers

Polyomavirus à cellules de Merkel et nouveaux Polyomavirus.

Auteur : Antoine TOUZE

UMR INRA Infectiologie et Santé Publique, Equipe Virologie et Immunologie Moléculaire, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Tours

E-mail : antoine.touze@univ-tours.fr

Résumé

La découverte du polyomavirus murin et du virus SV40 suivie de la démonstration de leur rôle oncogène *in vitro* et *in vivo* dans des modèles animaux ont conduit à étudier l'implication de cette famille de virus dans les cancers humains. Cependant, les travaux des trois dernières décennies dans ce domaine n'ont pas permis d'apporter la démonstration d'une telle association. C'est seulement récemment que la découverte du polyomavirus à cellules de Merkel (MCPyV, Feng et al., Science, 2008) identifié dans des carcinomes à cellules de Merkel (CCM) a relancé l'intérêt pour cette famille virale avec la découverte de 7 nouveaux polyomavirus humains.

Les études montrent que la prévalence des infections par le virus MCPyV est très élevée. Le MCPyV a été reconnu en 2012 par l'IARC comme carcinogène du groupe 2A. De plus, il demeure possible que le MCPyV ou d'autres polyomavirus humains soient associés à d'autres cancers.

Les travaux entrepris par notre équipe depuis cinq ans confirmeront la responsabilité du MCPyV dans le carcinome à cellules de Merkel, permettent de mieux connaître la fréquence de ces infections et ont permis de caractériser des éléments de la structure virale. L'établissement d'une cohorte de sujets présentant un CCM grâce à un réseau de cliniciens nous a également permis d'identifier des facteurs diagnostiques et pronostiques pour la prise en charge des patients présentant un MCC.

Papillomavirus humains et cancers de l'oropharynx: présentation du projet SPLIT

Auteur : Véronique DALSTEIN

MCU-PH, UMR-S 903 INSERM, Reims

Pour le groupe SPLIT*

*Silvia Franceschi, Jean Lacau St Guily, Christine Clavel, Philippe Birembaut, Gary Clifford, Jean-Damien Combes, Massimo Tommasino, Christiane Mouglin, Patrick Soussan, Gérard Agius, Joseph Abecassis, Brigitte Autran et l'ensemble des anatomopathologistes et chirurgiens ORL des CHU incluant des patients dans l'étude SPLIT.

E-mail : vdalstein@chu-reims.fr

Résumé

Les Papillomavirus humains (HPV) ont été retrouvés dans des fractions variables des cancers de l'oropharynx, notamment de l'amygdale. L'accumulation de preuves épidémiologiques et mécanistiques suggère que le carcinome amygdalien lié à l'HPV représente une entité distincte de ceux causés par le tabac et l'alcool. Pourtant, l'histoire naturelle de l'infection à HPV de l'amygdale reste très

mal connue, notamment la fréquence de l'infection ou encore l'existence éventuelle de lésions précancéreuses. Dans certaines régions en France, le taux d'incidence des cancers du pharynx est le plus élevé au monde. Cependant, si l'ADN d'HPV est détecté dans ~60% des carcinomes amygdaliens en France, la fraction réellement attribuable à l'HPV reste inconnue. Ces incertitudes affectent la mise en place d'approches préventives (vaccination contre HPV des adolescents des deux sexes) et curatives, qui deviennent disponibles spécifiquement pour les carcinomes liés à l'HPV.

Le projet SPLIT (*Study of human Papillomavirus and precancerous Lesions In the Tonsil: from healthy tissue to cancer*), financé par le PAIR VADS INCa, prévoit une étude transversale de la prévalence d'HPV dans les amygdales saines. Pendant une période de 4 ans, des patients pédiatriques (<15 ans, n=200) et adultes (n=500), programmés dans une sélection de centres hospitalo-universitaires français pour une amygdalotomie bilatérale en raison d'une pathologie non-cancéreuse, seront invités à participer à l'étude. Après résection chirurgicale, un protocole de macrotomie standardisé est appliqué sur les 2 amygdales, de façon à recueillir des cellules épithéliales exfoliées conservées en milieu de cytologie liquide, des fragments tissulaires congelés et des fragments tissulaires fixés et inclus en paraffine, sur lesquels sera réalisée une détection HPV. Par ailleurs, une recherche détaillée des éventuelles lésions précancéreuses sera également menée.

Le projet SPLIT devrait permettre une avancée majeure dans la compréhension des modifications moléculaires, cytologiques et histologiques qui accompagnent la formation des carcinomes amygdaliens liés ou non à l'HPV, et plus particulièrement sur la prévalence de nombreux types d'HPV (et d'autres virus potentiellement oncogènes) dans les amygdales d'enfants et d'adultes, l'âge d'acquisition de l'infection, la possibilité de détecter des lésions précancéreuses, ainsi que la prévalence de ces lésions chez les patients à haut-risque, les différences entre les lésions précancéreuses liées à l'HPV et celles causées par d'autres facteurs de risque, notamment le tabac. Ces informations sont essentielles pour les pays comme la France où l'infection à HPV semble en augmentation, mais où l'impact de l'alcool et du tabac sur le cancer de l'oropharynx reste très important. L'étude SPLIT permettra d'évaluer l'intérêt des stratégies préventives et curatives des affections oropharyngées malignes liées à l'HPV.

Origin, progression and potential prevention of HPV-related cervical (pre)neoplastic lesions

Auteur : [Michael HERFS](#)

Laboratory of Experimental Pathology, GIGA-CANCER, University of Liege, Liege, Belgium.

E-mail : m.herfs@ulg.ac.be

Résumé

With an estimated incidence of 500,000, cervical cancer is the third most common cancer in women and the seventh overall. Despite the hope generated by the commercialization of 2/4-valent HPV vaccines, this rate hasn't significantly decreased in the last years and several characteristics of current HPV vaccines may limit their success (unaffordable cost for most people in developing countries, regional variation in the proportion of cancers attributable to HPV16/18, logistical challenges...).

Characterized by the juxtaposition of two different types of epithelia, cervical squamocolumnar (SC) junction has, for decades, attracted the attention of clinicians and researchers. Indeed, it is well established that most cervical (pre)neoplastic lesions arise in this peculiar microenvironment. Recently, we discovered a discrete population of residual embryonic cells at the cervical SC junction that shared a unique expression profile with a high percentage (>90%) of high-grade squamous intraepithelial lesions and cancers. Besides HPV vaccination, this new discovery might point the way to a different, simple way to prevent cervical cancer: by removing the vulnerable cells that are its source. This clinical perspective is supported by historical anecdotes of postpartum cervical cauterization that have reported exceedingly low rates of subsequent cervical neoplasia. These results raise the intriguing possibility that freezing HPV-target cells in the SC junction could underlie the apparent prophylactic benefits of cryotherapy.

Communications orales

Hypoxie intratumorale et adaptabilité à l'hypoxie dans les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures

Auteurs : [Elodie HANNS¹](#), [Christine MACABRE¹](#), [Sonia LEDRAPPIER¹](#), [Bohdan WASYLKY²](#), [Georges NOEL¹](#), [Joseph ABECASSIS²](#), [Alain C. JUNG¹](#)

1 : Laboratoire de Biologie Tumorale, EA3430, CLRC CC Paul Strauss, 3 Rue de la Porte de l'Hôpital, 67065 Strasbourg Cedex

2 : Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104 CNRS UDS - U 964 INSERM, 1 Rue Laurent Fries, 67404 Illkirch Cedex

E-mail : EHanns@strasbourg.unicancer.fr

Résumé

Les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures (VADS) sont liés à deux facteurs de risque: l'intoxication alcoolique-tabagique (75-80% des cas) et l'infection par les papillomavirus humains (HPV ; 20-25% des cas). Ces derniers définissent une sous-population de patients de meilleur pronostic. Les tumeurs des VADS sont fréquemment hypoxiques, et l'hypoxie intra-tumorale est un facteur de mauvais pronostic. L'adaptation cellulaire à l'hypoxie est régulée par le facteur de transcription HIF1a. HIF1a est dégradé en normoxie sous l'influence des prolyl hydroxylases PHD1, 2 et 3. En hypoxie, la stabilisation protéique de

HIF1? lui permet d'induire l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme cellulaire (GLUT1), l'angiogénèse (VEGFA), la carcinogénèse (PAI-1). Afin de caractériser l'hypoxie intratumorale des cancers des VADS, nous avons analysé l'expression des gènes codant HIF1a, les PHDs et des gènes cibles de HIF1a dans 30 tumeurs oropharyngées HPV+ et 50 tumeurs oropharyngées HPV-. L'hypoxie intratumorale et la vascularisation tumorale sur 29 tumeurs HPV+ et 29 tumeurs HPV- ont été analysées par immunohistochimie. L'adaptabilité cellulaire à l'hypoxie a été analysée sur une lignée cellulaire HPV- et une lignée cellulaire HPV+.

Les résultats de qRT-PCR et d'immunohistochimie suggèrent que les tumeurs HPV+ soient moins hypoxiques que les tumeurs HPV-. L'étude des modèles cellulaires montre une meilleure adaptation de la lignée HPV- aux conditions de culture hypoxiques que la lignée HPV+. Les xenogreffes de la lignée HPV+ sont fortement vascularisées. Une analyse immunohistochimique de ces xenogreffes est en cours afin d'évaluer l'hypoxie intra-tumorale et la vascularisation stromale. De plus, une analyse par imagerie temps réel de l'hypoxie intra-tumorale par marquage au FMISO sera prochainement réalisée par PET-SCAN du petit animal situé sur la plateforme du Nancyclolep à Nancy.

Régulation épigénétique des gènes précoces d'HPV16.

Auteurs : [Morel Adrien](#), [Jacquin Elise](#), [Demeret Caroline](#), [Mougin Christiane](#), [Prézet Jean-Luc](#)

Université de Franche-Comté, Laboratoire de Biologie Cellulaire / EA 3181 / IFR 133 , CHU Jean Minjoz 25030 BESANCON cedex

E-mail : adrien.morel@univ-fcomte.fr

Résumé

Les papillomavirus humains (HPV) à haut risque sont responsables du cancer du col de l'utérus. C'est la surexpression des oncogènes E6 et E7 qui favorise l'immortalisation puis la transformation cellulaire. En effet, le génome viral s'intègre dans l'ADN de la cellule hôte, le plus souvent suite à une rupture du gène E2, ce qui a pour conséquence d'inactiver E2 qui ne joue plus son rôle de répresseur en se fixant sur les E2BS proximaux (E2 Binding Site) du promoteur viral p97. En 2009, Fernandez et al. ont suggéré une régulation épigénétique des gènes d'HPV16 par la méthylation des E2BS proximaux qui empêche la fixation de E2 sur p97. Notre objectif était de confirmer que la méthylation des E2BS est impliquée dans la régulation de l'expression de E6 et E7 d'HPV16 et de déterminer si cette régulation était dépendante ou non de E2. Après traitement de cellules CaSki (ARNm E2+ et E6+, E2BS méthylés) et SiHa (ARNm E2- et E6+, E2BS non méthylés) par un agent déméthylant, le 5-aza-2'-désoxycytidine (5aza), nous avons observé une diminution du taux de méthylation des E2BS et une diminution d'expression des ARNm E6 et E2 dans les cellules CaSki et de façon surprenante une diminution des transcrits E6 dans les cellules SiHa. Dans les cellules CaSki, cette diminution d'expression des transcrits n'est pas dépendante de E2 dans la mesure où nous n'avons pas détecté cette protéine dans les cellules. Toutefois, la surexpression de E2 dans les cellules CaSki traitées par 5aza conduit à une

extinction quasi-totale de la protéine E6, suggérant que le promoteur viral déméthylé peut être réprimé par E2. L'ensemble de nos données nous permet de confirmer que l'expression de E6 peut être modulée suite à la méthylation des E2BS proximaux via la protéine E2, mais aussi de façon indépendante de E2 vraisemblablement via des facteurs cellulaires dont l'expression est elle-même soumise à régulation épigénétique.

Les « Omiques » fonctionnelles des cancers

Tenascin-C promotes primary tumor initiation and lung metastatic colonization in an ERBB2 – driven murine model of breast cancer.

Auteurs : Thomas Hussenet, Inés Velazquez-Quesada, Mickaël van der Heyden, Christiane Arnold, Annick Klein and Gertraud Orend

Inserm U1109 ; Avenue Molière ; 67200 STRASBOURG

E-mail : hussenetthomas@gmail.com

Résumé

Tenascin-C (TNC) is a major Extra-Cellular Matrix component that is recurrently highly expressed in human breast cancer and correlates with poor prognosis, tamoxifen resistance and lung metastasis formation.

Our goal is to comprehensively understand the several contributions of TNC during breast cancer establishment and progression to metastatic disease using oncogene-induced murine models of breast cancer. In particular we analyzed the consequences of TNC loss of function (using TNC knockout mice) in a murine model of breast cancer driven by oncogenic ERBB2 (MMTV-NeuNT). We show that the loss of TNC significantly delays the appearance of breast primary tumors while it does not seem to have a major impact on their growth. Very interestingly however, the loss of TNC strongly reduces lung metastatic colonization. We are currently dissecting the molecular and cellular mechanisms implicated in TNC-dependent breast cancer aggressiveness using in vitro and in vivo approaches. Of note, from the MMTV-NeuNT transgenic mouse model we established novel cellular models of breast cancer. Importantly, these syngeneic murine cancer cell lines are tumorigenic when the cells are orthotopically implanted in the mammary gland of immune-competent animals, from which they spontaneously metastasize to the lung, altogether phenocopying the tumors in the transgenic model. We are currently using these cellular models in vitro and in vivo to analyze i) the contribution of tumor versus stromal-derived TNC during breast primary tumor growth and metastasis formation and ii) the effect of novel candidates implicated downstream of TNC in breast cancer aggressiveness.

Altogether, this work will allow to gain novel insights into the mechanisms by which TNC promotes breast primary tumor initiation and metastatic colonization. Ultimately we aim at identifying novel targets of potential translational relevance and attempt to bring the first pre-clinical evidences thereof.

Communications orales

Le suppresseur de tumeur Cdx2 augmente la chimiorésistance des cellules cancéreuses coliques au 5-Fluorouracile via le transporteur ABCC11

Auteurs : Jean-Baptiste Delhorme², Elisabeth Martin, Jean-Marie Reimund^{1,3}, Jean-Noël Freund² et Isabelle Gross²

1 Université de Caen Basse - Normandie, UFR de Médecine, EA 4652 (Laboratoire « Microenvironnement Cellulaire et Pathologies »), SF ICORE 4206, CHU de Caen, 14032 Caen Cedex

2 Laboratoire « Voies de signalisation du développement et du stress cellulaire dans les cancers digestifs et urologiques », Unité INSERM 1113, UFR de Médecine, Université de Strasbourg, 3 avenue Molière, 67200 Strasbourg

3 Service d'Hépatogastroentérologie et d'Assistance Nutritive, Pôle des Pathologies Digestives, Hépatiques et de la Transplantation, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, 1 Avenue Molière, 67098 Strasbourg Cedex

E-mail : jb.delhorme@hotmail.fr

Résumé

Contexte: Le traitement des cancers colorectaux (CCR) de stade avancé repose sur la chirurgie et la chimiothérapie à base de 5-Fluorouracile (5-FU). Celle-ci se heurte à la chimiorésistance, un phénomène complexe qui inclut notamment la surexpression par la tumeur de molécules d'efflux de la famille ABC. Cdx2 est un facteur de transcription qui permet le maintien de l'identité et de l'homéostasie intestinale. Son expression est réduite de manière hétérogène dans les CCR, ce qui pourrait influencer sur la chimiorésistance anticancéreuse car ABCB1 a récemment été identifié comme un de ses gènes cibles.

Méthode et résultats : Nous avons observé (MTT) que les cellules cancéreuses coliques différenciées (Caco2/TC7) et les cellules dans lesquelles la surexpression de Cdx2 a été induite (HT29-TW6) sont plus résistantes au 5-FU que les cellules contrôles. Par RT-qPCR, nous avons constaté que l'expression de plusieurs transporteurs de la famille ABC est augmentée dans ces cellules. Des approches de gain ou perte de fonction dans des cellules cancéreuses coliques HCT116 nous ont permis de montrer que Cdx2 est nécessaire à l'expression d'ABCC11, un transporteur qui permet l'efflux du 5-FU. Des expériences de gène rapporteur et d'immunoprécipitation de chromatine ont confirmé que Cdx2 régule directement l'expression d'ABCC11 et interagit avec son promoteur. Enfin, l'inhibition d'ABCC11 par le MK-571 permet de restaurer la sensibilité au 5-FU des cellules surexprimant Cdx2, suggérant que l'activité d'ABCC11 est nécessaire à la chimiorésistance induite par Cdx2.

Discussion : Ces résultats ont permis d'identifier un nouveau gène cible de Cdx2 qui pourrait contribuer à la chimiorésistance des CCR. Cette étude sera poursuivie par la recherche d'une corrélation entre la réponse à la chimiothérapie des patients et les niveaux d'expression de Cdx2 et d'ABCC11 détectés dans leur tumeur. A terme, ABCC11 pourrait représenter un nouvel outil pronostique ou une cible thérapeutique pour les CCR.

Angiomatrix, a signature of extracellular matrix components specific to the tumor angiogenic switch, correlates with poor prognosis for human cancer patients

Auteurs : Benoit Langlois*, Falk Saupe *, Tristan Rupp, Christiane Arnold, Gertraud Orend **, Thomas Husenet ** (*: co-first author; **: co-corresponding authors)

Inserm U1109 ; Avenue Molière ; 67200 STRASBOURG

E-mail : benoit.langlois02@gmail.com

Résumé

Angiogenesis represents a rate-limiting step during tumor progression. Elucidation of molecular mechanisms driving tumor angiogenesis (e.g. implicating signaling by VEGFs and their receptors) allowed to design targeted therapies. However, limits of such anti-angiogenic therapies have emerged, notably because tumor cells adapt and tumors recur in more aggressive fashions. There is therefore a need to identify novel mechanisms implicated in tumor angiogenesis that have a potential for translational applications. Using a transgenic murine model of pancreatic neuroendocrine cancer (Hanahan, Nature 315, 1985) where angiogenesis represents an early step of multi-stage tumor progression (Folkman et al., Nature 339, 1989), we compared non-angiogenic and angiogenic early tumors to obtain a comprehensive description of the angiogenic switch at the level of gene expression. We show that the angiogenic switch correlates with the deregulation of a discrete set of genes that include markers of stromal cells (endothelial, pericytes and macrophages) and signaling molecules known to exert key roles in tumor angiogenesis. Interestingly, this signature is significantly enriched for molecules composing and regulating the extracellular matrix (ECM, 40% of genes), defining the AngioMatrix signature. We demonstrate that a high expression of this AngioMatrix signature significantly and recurrently correlates with poor prognosis for human patients with colorectal cancer or glioblastoma.

Together, our study provides a comprehensive description of the transcriptome induced during the angiogenic switch in a murine tumor model. Importantly it pinpoints the ECM and specific members thereof as key stromal components regulating tumor-stromal cell crosstalks and hence underlying tumor vascular development. The clinical relevance of the AngioMatrix signature suggests that our study could pave the way towards the identification of novel diagnostic and therapeutic applications for cancer patients.

Ku proteins: New partners of the nuclear retinoic acid receptor alpha.

Auteurs : Gabriella Pankotai-Bodó, Samia Gaouar, Regis Lutzinger, Cécile Rochette-Egly

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

E-mail : pgbabi@igbmc.fr

Résumé

Nuclear retinoic acid receptors (RAR alpha, beta, and gamma) are ligand-regulated transcription factors, which are involved in several physiological processes such as cell differentiation, development and organogenesis. As a consequence several severe diseases are associated to RARs functional defects. Our group has shown that RARs are phosphoproteins and that their phosphorylation state controls the association/dissociation of coregulators through subtle changes in their conformation. Consequently, phosphorylation plays an important role in RARs activities, mainly in RARs transcriptional activity. One of the most important phosphorylation site is a serine residue located in a proline-rich motif of the N-terminal domain (NTD).

Here we aimed at identifying new partners for the NTD of the RAR alpha subtype in GST pull down assays performed with both the NTD and the DNA binding domain of RAR alpha. Extracts from several human cancer cell lines were loaded and the eluates were analyzed by mass spectrometry. By using this strategy we identified the Ku70 and Ku80 proteins which are mainly known to work as heterodimer in the DNA protein kinase complex. They are multifunctional proteins and are involved in several processes such as transcription, reparation of double strand DNA breaks and telomerase maintenance. We confirmed the interaction of the Ku proteins with RAR alpha in coimmunoprecipitation experiments performed either with the recombinant or the endogenous proteins. Finally by combining siRNA, immunofluorescence (colocalisation) and qRT-PCR experiments we demonstrated that the Ku proteins are involved in the regulation of the transcriptional activity of RAR alpha. In conclusion this work highlighted not only new partners of RAR alpha (Ku proteins) but also a new function for the Ku proteins.

Rôle de l'hypoxie dans la transition épithélio-mésenchymateuse des cancers bronchiques non à petites cellules

Auteurs : Renaud Stéphane*, Dominique Guenet, Erwan Pencreach, Eric Guérin, Marie-Pierre Gaub, Natacha Entz-Werlé, Michèle Beau-Faller

*Groupe de transplantation pulmonaire ; Hôpitaux Universitaires de Strasbourg,

EA 3430 Uds, Adresse Bâtiment U1113, 67200, Strasbourg

E-mail : sterenaud0@gmail.com

Résumé

Introduction : Le cancer bronchique (CB) constitue la première cause de décès par cancer dans le monde du fait de formes avancées au diagnostic et de résistance aux traitements. La transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) est impliquée dans la progression tumorale et dans les résistances aux drogues. Notre objectif est d'évaluer le rôle de l'hypoxie, et notamment de HIF-1 α sur l'induction de la TEM dans les CB.

Matériel et méthodes : Notre travail est réalisé sur 2 lignées cellulaires tumorales porteuses de mutations activatrices de l'EGFR (H1650 : délétion de l'exon 19, H1975 : mutation L858R de l'exon 21 et T790M de l'exon 20 de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase). Nous avons étudié en normoxie et en hypoxie : les modifications morphologiques, des capacités prolifératives et migratoires, de l'expression de HIF-1 α , de l'expression protéique et en ARNm de différents marqueurs épithélio et mésenchymateux et des facteurs de transcription inducteurs de TEM. **Résultats** : Le passage en hypoxie s'accompagne d'une modification morphologique « fibroblastoïde » des deux lignées. La proportion de cellules ayant migré est significativement plus importante en hypoxie dans les deux lignées H1650 et H1975 (5% +/- 4,65% vs 35% +/- 10,27%, p<0,001 ; 20% +/- 8,94% vs 65% +/- 21,6%, p<0,001 ; respectivement). Sur le plan protéique, on observe en hypoxie une sur-expression de HIF-1 α , une diminution de l'expression de la E-cadhérine avec relocalisation cytoplasmique, et une augmentation de l'expression de la vimentine. L'hypoxie entraîne une augmentation de l'expression des facteurs de transcription de la TEM sur le plan protéique et en ARNm. La sur-expression des facteurs de transcription de la TEM et des marqueurs mésenchymateux est inhibée par l'inhibition de HIF-1 α .

Conclusion : L'hypoxie induit une TEM dans des lignées de CB présentant une mutation activatrice de l'EGFR, en partie via HIF-1 α . Cette TEM serait plus importante dans la H1975.

Immunité et Cancer

Auteur : Pedro ROMERO

Ludwig Center for Cancer Research
of the University of Lausanne

E-mail : pedro.romero@unil.ch

Résumé

Au moment où nous imprimons le booklet, titre et résumé de la communication de M. Romero ne sont pas disponibles.

Modulation of Regulatory T cells in long resected patients with metastatic renal cell carcinoma (mRCC) treated with everolimus (EVE)

Auteurs : Thierry-Vuillemin(1), L. Mansi(1,5), C. Laheurte(2), L. Beziaud(5) T. Maurina(1), V. Nerich(3), T. NGuyen Tan Hon(1), U. Stein(1), P. Montcuquet(1), F. Kleinclauss(4), O. Adotevi(1, 5)

(1)University Hospital Jean Minjoz, medical oncology, Besançon, France

(2)University Hospital Jean Minjoz, CIC-BT506, Besançon, France

(3)University Hospital Jean Minjoz, pharmacy unit, Besançon, France

(4)University Hospital Jean Minjoz, urology, Besançon, France

(5)INSERM UMR1098 Besançon, UMR1098, Besançon, France

E-mail : olivier.adotevi@univ-fcomte.fr

Résumé

Background: EVE has demonstrated activity in the treatment of mRCC after failure of VEGF-targeted tyrosine kinase inhibitors. mTOR Inhibition can also facilitate the induction of immunosuppressive regulatory T cells (Treg).

Methods: Our observational study reports retrospective data on EVE in routine use. Eligible

patients had mRCC; were given EVE after prior first-line systemic therapies comprising anti-angiogenic agents. Blood Treg cells were evaluated lymphocytes by measuring CD4+CD25+Foxp3+ T cells by flow cytometry in blood.

The data were provided by each center and centralised. The focus was on IR assessment, the oncologic outcome and the clinical safety.

Results: Ten pts have been followed between Sept 2011 and March 2013. Baseline patient

characteristics included median age of 66 [51-83] years old; 90% male; 100% with prior nephrectomy. Prognostic groups at the time of EVE initiation according to Heng were: good 60%, intermediate 20% and poor prognosis 20%. After initiation of everolimus 75 % of patients were alive and 32 % free from disease progression at 24 months respectively. Overall response rate was 30 % and disease stabilization rate was 70%. At least one adverse event (AE) occurred in 100 % of pts with 2 serious AEs. All grade common AEs were consistent with the toxicity profile of EVE. Treg cells number decreased significantly in the 3 (30%) patients who experienced the longer PFS (progression free survival). Stable Treg cells were found in 6 (60%) patients and increased in only one patient. In contrast, these cells greatly increase over than 10% of total blood lymphocyte in one patient who progressed on everolimus therapy (4/10).

Conclusions: These preliminary data suggest that everolimus could shape host immune responses, which in turn could contribute to the efficacy of the anti-mTOR therapy. Thus, we believe that it could be interesting to take into account the immunomodulatory effect of anti-mTOR drugs for the management of metastatic RCC patients.

Rôle des transcrits alternatifs dans la résistance à l'immunité anti-tumorale et perspectives en immunothérapie : exemple de la Survivine-3B

Auteur : Romain BOIDOT

Centre Georges-François Leclerc; Département de Biologie et de Pathologie des Tumeurs; Unité de Biologie Moléculaire; 1, rue du Professeur Marion; 21079 Dijon Cedex

E-mail : RBoidot@cgfl.fr

Résumé

L'épissage alternatif est un processus extrêmement important puisqu'il est à l'origine de trois quarts des protéines cellulaires. En effet, il y a environ 20000 gènes présents dans le génome humain alors que le nombre de protéines est estimé à plus de 80000. Ce phénomène, finement régulé dans des conditions physiologiques, semble ne plus être contrôlé dans des conditions pathologiques. En effet, certains transcrits ne sont exprimés qu'en conditions pathologiques. C'est le cas de la Survivine-3B, isoforme alternative de la Survivine. Cette protéine est exprimée dans les tissus cancéreux alors qu'elle est complètement absente des tissus sains. La Survivine-3B joue un rôle important dans la tumorigenèse en bloquant la mort induite par les cellules du système immunitaire, par inhibition de l'apoptose extrinsèque et intrinsèque. Le blocage de cette dernière implique également une résistance aux traitements chimiothérapeutiques. La spécificité tumorale de la Survivine-3B laisse penser que certains peptides de cette protéine pourraient être présentés à la surface cellulaire et donc générés une réponse immunitaire. D'après des études bioinformatiques, il semble que la séquence peptidique spécifique de la Survivine-3B aurait des certaines propriétés immunogènes. Des travaux collaboratifs entre Dijon et Besançon sont actuellement en cours pour explorer cette voie.

Communication orale

Virus specific cytotoxic T lymphocyte sub-population study

Auteurs : BENSOUSSAN Danièle^{1,2,3}, Yingying WANG^{1,2}, Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT⁴, Laurence CLEMENT⁵, Jean-François STOLTZ^{1,2}, Véronique DECOT^{1,2}.

¹ CHU de Nancy, Unité de Thérapie cellulaire et Tissus, Vandœuvre-Lès-Nancy, 54511-France.

² Université de Lorraine, UMR 7365 and FR 3209 CNRS-INSERM, Nancy, 54000-France.

³ Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, Département de Microbiologie-Immunologie, Nancy, F54001, France.

⁴ CHU de Nancy, Laboratoire d'Immunologie et Plateforme Nancytomique, Vandœuvre-lès-Nancy, F54511, France

⁵ CHU de Nancy, Unité de Transplantation Médullaire Allogénique, Vandœuvre-lès-Nancy, F54511, France

E-mail : d.bensoussan@chu-nancy.fr

Résumé

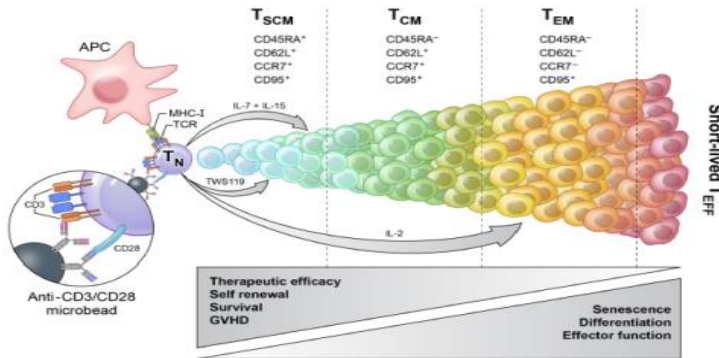
Introduction : Viral infections are the major cause of morbidity and mortality for the patients following haematopoietic stem cell transplant (HSCT). Absence of efficacy of anti-viral drug is often correlated to absence of anti-virus specific immunity. Moreover, anti-viral drugs sometime cause important side effects. An alternative therapy is specific immunotherapy by virus specific T cell (CTL: Cytotoxic T Lymphocytes). It has proved effective in clinical studies to control virus infections and to contribute to virus-specific immunity reconstitution. However we aimed to identify the T sub-populations in CTLs after IFN γ immunomagnetic selection. Thanks to the recent discovery of stem cell like memory T cell (T_{SCM}), which is a long life memory subpopulation, with a high proliferative potential and an enhanced capacity for self-renew.

We also identified this sub-population in CTLs.

Materials et Methods : Freshly selected virus-specific T cells (EBV-CTL n=1 ; ADV-CTL n=2 ; CMV-CTL n=2) were stained by the LIVE/DEAD AQUA fluorescent-reactive, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD3, anti-CD45RA, anti-CD27, anti-CD197 (CCR7), anti-CD95, anti-IFN- γ . Expression of CD27, CCR7, CD45RA and CD95 was analysed on CD3⁺CD4⁺IFN- γ ⁺ and CD3⁺CD8⁺IFN- γ ⁺ gated T cells. Naïve T cells (T_N) were defined as CD45RA⁺CCR7⁺CD95⁻; Stem cell like memory T cells (T_{SCM}) as CD45RA⁺CCR7⁺CD95⁺; Central memory T cells (T_{CM}) as CD45RA⁻CCR7⁺; Effector memory T cells (T_{EM}) as CD45RA⁻CCR7⁻ and Effector T cell (T_{EFF}) as CD45RA⁻CCR7⁻. Flow cytometric acquisition was performed on 500 000 events per sample on a Navios cytometer (Beckman Coulter). Kaluza software (v1.2) was used for analysis (Beckman Coulter).

Results: Within all the virus specific CTLs (ADV-CTL, EBV-CTL and CMV-CTL), all the T cell sub-populations (T_N, T_{SCM}, T_{CM}, T_{EM}, T_{EFF}) were observed among CD3⁺CD4⁺IFN- γ ⁺ and CD3⁺CD8⁺IFN- γ ⁺ T cells. T_{EM} was the most important in CD3⁺CD4⁺IFN- γ ⁺ and CD3⁺CD8⁺IFN- γ ⁺ T cells (>80%). However, stem cell like memory T cell compartment (T_{SCM}) was also identified in CD3⁺CD4⁺IFN- γ ⁺ (0,028-0,45%) and CD3⁺CD8⁺IFN- γ ⁺ (0,0-1,08%) except in ADV-CTL. T_N was present mainly in CD3⁺CD4⁺IFN- γ ⁺ T cells for EBV- CTL, but mainly in CD3⁺CD8⁺IFN- γ ⁺ for ADV-CTL and CMV-CTL.

Conclusion: In anti-virus CTLs selected by IFN- γ based immunomagnetic technology, all the T cell sub-populations described by then are present. Although the number of isolated CTL available for infusion to patients is low, the presence of Tscm allows for a high in vivo expansion potential on antigen stimulation.



Programming T-cell fates for therapeutic use. After antigen encounter or stimulation with anti-CD3 and anti-CD28 antibody-conjugated microbeads, naïve T cells (T_N) enter a program of proliferation and differentiation that culminates in the generation of terminally differentiated short-lived effector T cells (T_{EFF}). During this process of maturation, T cells progressively acquire effector functions but simultaneously lose their capacities for self-renewal and survival, diminishing their therapeutic effectiveness. Cytokines and small molecules can be used to modulate this process and preferentially generate a desired T-cell subset. IL-2 induces effector memory T cells (T_{EM}), while IL-7 and IL-15 can be used in combination to generate T memory stem cells (T_{SCM}). T_{SCM} can also be induced by targeting the Wnt/β-catenin signaling pathway with TWS119 or other inhibitors of GSK-3β. APC indicates antigen presenting cell; and T_{CM}, central memory T cell.



Indicateurs de Santé, Epidémiologie, SHS

1

Evaluation et comparaison de trois méthodes statistiques pour l'analyse longitudinale de la qualité de vie relative à la santé en cancérologie

Auteurs : Amélie Anota¹, Caroline Bascol-Mollevi², Franck Bonnetain¹

1. Plateforme Qualité de Vie et Cancer et Unité de Méthodologie et de Qualité de Vie en Cancérologie (EA 3181), CHRU Besançon

2. Unité de Biostatistique, Institut du Cancer, Montpellier Val d'Aurelle

E-mail : aanota@chu-besancon.fr

Résumé

Contexte

La qualité de vie relative à la santé (QdV) est devenue l'un des objectifs prioritaires des essais cliniques en cancérologie pour pouvoir évaluer l'efficacité d'un nouveau traitement. Cependant l'analyse longitudinale de la QdV reste à ce jour complexe et non standardisée. De plus il paraît nécessaire de proposer des méthodes statistiques proposant des résultats pertinents pour le clinicien. Ce projet a pour but de comparer trois méthodes pour l'analyse longitudinale de la QdV afin de proposer un standard pour l'analyse longitudinale de la QdV.

Méthode

Les trois méthodes comparées sont 1) un modèle linéaire mixte, 2) le temps jusqu'à détérioration d'un score de QdV de type analyse de survie et 3) un modèle longitudinal issu de la théorie de réponse à l'item. Ces trois méthodes seront comparées d'un point de vue statistique par des simulations de données de QdV selon l'erreur de type I et la puissance ainsi que sur des données issus de plusieurs essais cliniques. Différents scénarios de simulations sont investigués. Les simulations se font sur données complètes puis sur données incomplètes intermittentes et monotones. Dans un second temps, ces méthodes seront aussi comparées d'un point de vue clinique en faisant appel à un panel d'expert.

Résultats

Les simulations sont en cours d'implémentation et les premiers résultats pourront être présentés lors du forum. Un premier travail a été réalisé en amont avec la création d'un package R et d'une macro SAS sur le temps jusqu'à détérioration permettant une dissémination de ces approches.

Discussion

Les résultats de ce projet permettront une standardisation de l'analyse longitudinale de la QdV ce qui favorisera le développement de l'analyse de données de QdV dans les essais cliniques en cancérologie. L'objectif final serait de proposer un consensus sur les méthodes à utiliser pour une analyse pertinente et fiable de la QdV selon les situations thérapeutiques et les localisations cancéreuses.

2

Analyse exploratoire de la qualité de vie relative à la santé dans un essai de phase I étudiant l'impact de l'administration d'une dose d'idarubicine associée à une chemoembolisation des carcinomes hépatocellulaires non résecables

Auteurs : Amélie Anota¹, Mathieu Boulin², Sandrine Babakuy³, Laurent Bedenne², Boris Guiu⁴, Franck Bonnetain¹

1. Plateforme Qualité de Vie et Cancer et Unité de Méthodologie et de Qualité de Vie en Cancérologie (EA 3181), CHRU Besançon

2. INSERM U866, Université de Bourgogne

3. Unité de Biostatistique et de Qualité de Vie, Centre Georges François Leclerc, Dijon

4. Département de Radiologie, CHU de Dijon

E-mail : aanota@chu-besancon.fr

Résumé

Contexte

Les études de phase I ont pour objectif de déterminer la dose recommandée (dose maximale tolérée, (DMT)) dans les futurs essais. Dans ce contexte, la Qualité de Vie relative à la santé (QdV) pourrait compléter l'évaluation de la toxicité pour détecter des traitements intolérables. L'objectif est d'investiguer la QdV dans un essai de phase I.

Méthode

Un essai de phase I de chemoembolisation par des microsphères d'embolisation chargées avec de l'idarubicine a été menée chez des patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire non résecable. La DMT a été définie comme le palier de dose d'idarubicine pour lequel 20% des patients maximum ont une dose limitante toxique. La QdV a été évaluée par le questionnaire EORTC QLQ-C30 à l'inclusion, à J15, J30 et J60 après chemoembolisation. Le temps jusqu'à détérioration d'un score de QdV (TJD) a été investigué comme modalité d'analyse longitudinale et a été défini comme le délai entre la randomisation et l'observation d'une première détérioration d'au moins 5 points par rapport au score à l'inclusion, ou le décès. Le TJD d'au moins un score de QdV ou l'apparition d'une toxicité de grade 3-4 a aussi été exploré. Des analyses de Cox ont été réalisées afin d'identifier les facteurs influençant le TJD.

Résultats

21 patients ont été inclus entre mars 2010 et mars 2012: 9 patients ont été traités à une dose d'idarubicine de 5mg, 6 à 10mg et 6 à 15mg. La DMT calculée est de 10 mg. Les patients inclus à 10mg présentaient un TJD plus long qu'à 5mg pour la QdV/santé globale (HR 0.87 [CI95% 0.14-5.36]) et la douleur (0.52 [0.09-3.16]). Les femmes présentaient une détérioration plus tardive de la douleur que les hommes (14.7 [1.31-164.7]).

Discussion

Ces résultats montrent l'intérêt de l'étude de la QdV dans les essais de phase I. Ils sont cohérents avec le palier de dose retenu d'idarubicine de 10mg. Néanmoins, si la QdV avait été incorporée dans la définition de la DLT, le palier de dose à 15mg aurait peut-être pu être retenu.

Résumés des posters

3

Mise en évidence de la structure relationnelle des facteurs influençant la pratique d'activité physique

Auteurs : Franck Hess, C. Eaux, C. Weber, H. Charreire, A. Maire, T. Bastian, C. Simon, J.-M. Oppert
Laboratoire Image, Ville, Environnement - UMR 7362, Université de Strasbourg - CNRS 3 rue de l'Argonne, 67083 STRASBOURG
E-mail : franck.hess@live-cnrs.unistra.fr

Résumé

Les recherches menées dans le domaine de la santé s'accordent aujourd'hui sur l'influence positive de l'activité physique. Toutefois, seule une partie de la population atteint le seuil recommandé de 30 minutes d'activité physique quotidienne modérée à intense. Pour comprendre ces variations au sein de la population, les motivations conduisant à la pratique d'activités impliquant un effort physique ont été mises en rapport avec les environnements physique et social sur la base de 9 entretiens semi-directifs. Cette analyse qualitative a conduit à la proposition d'une structure mettant en relation les grandes dimensions ayant une influence sur la pratique d'activité physique au quotidien. Nous avons également pu observer que l'influence de certains de ces facteurs varie en fonction de la manière dont l'individu considère ses activités de la vie courante, et des motivations qu'il associe à l'effort physique qu'il fournit.

4

Evaluation de la fonction intestinale des patients atteints d'un cancer du rectum avancé résecable selon deux schémas de radiochimiothérapie concomitante - Etude ancillaire de qualité de vie de l'essai randomisé de phase III ACCORD 12/0405-Prodigé

Auteurs : C. Rotonda ^{a,b,c,d}, J.P. Gérard ^e, M. Mercier ^{a,f}, D. Azria ^g, T. Conroy ^{a,d,h}, J.F. Seitz ^{ij}, O. Bouché ^{jk}, X. Mirabel ^l, A. Adenis ^l, B. Juzyna ^m, F. Bonnetain ^{a,f,n}, S. Gourgou-Bourgade ^o.

^a Plateforme Qualité de Vie et Cancer, France

^b Inserm, CIC-EC CIE6, Nancy, F-54000, France

^c CHU Nancy, service d'épidémiologie et d'évaluation cliniques, Vandoeuvre-lès-Nancy, F-54505, France

^d Université de Lorraine, APEMAC, EA 4360, Nancy, F-54000, France

^e Centre Antoine Lacassagne, département de radiothérapie, Nice, F-06189, France

^f Université de Franche-Comté, EA 3181, SFR 4234, Besançon, F-25030, France

^g Institut régional du Cancer de Montpellier Val d'Aurelle, Montpellier, F-34298, France

^h Institut de cancérologie de Lorraine - Alexis Vautrin, département d'oncologie médicale, Vandoeuvre-lès-Nancy, F-54519, France

ⁱ Hôpital La Timone, Université Aix-Marseille, département de cancérologie digestive, Marseille, F-13005, France

^j Fédération Francophone de la Cancérologie Digestive, Dijon, F-21000, France

^k CHU Reims, département de cancérologie digestive, Reims, F-51100, France

^l Centre Oscar Lambret, département de cancérologie urologique et digestive, Lille, F-59020, France

^m UNICANCER, R&D UNICANCER, Paris, F-75654, France

ⁿ CHU Besançon, Unité Méthodologique et de Qualité de Vie en Cancérologie, Besançon, F-25000, France

^o Institut régional du Cancer de Montpellier Val d'Aurelle, unité de biostatistique, Montpellier, F-34298, France.

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

Résumé

Contexte : La radiochimiothérapie préopératoire (pRCT) est considérée comme le traitement standard des cancers du rectum car elle améliore le contrôle local de la maladie et la survie des opérés. L'objectif de cette étude est d'analyser l'évolution de la fonction intestinale chez des patients atteints d'un cancer du rectum avancé résecable dans le cadre de l'essai de phase III ACCORD 12/0405-Prodigé 2 comparant l'effet préopératoire de deux schémas de radiochimiothérapie concomitante.

Patients et méthodes : 598 patients atteints de cancer du rectum avancé résecable ont été inclus et randomisés avant la chirurgie selon le bras de traitement: bras Cap 45 (radiochimiothérapie concomitante 45 Gy + capecitabine) vs bras Capox 50 (radiochimiothérapie concomitante 50 Gy + capecitabine/oxalipatine). La fonction intestinale des patients a été évaluée à l'aide du questionnaire spécifique de la chirurgie conservatrice du sphincter anal, l'ASCT, à l'inclusion, après la pRCT, après la chirurgie et à 12 mois. Afin de comparer la fonction intestinale selon le bras de traitement, une analyse de variance sur mesures répétées a été réalisée chez les patients ayant subi une chirurgie conservatrice.

Résultats : 78,6% (n = 459) des patients ont complété l'ASCT à l'inclusion. Les analyses à chaque temps de mesure ont montré que le score ASCT n'était pas statistiquement différent selon le bras de traitement. L'analyse longitudinale a concerné 62 patients traités par chirurgie conservatrice. L'évolution de la fonction intestinale n'était pas statistiquement différente selon le bras de traitement.

Conclusion : L'ajout de l'oxalipatine et d'une radiothérapie à dose croissante (50GY / 5 semaines) en traitement de pRCT n'a pas perturbé la fonction intestinale lors de la première année de suivi.

5

Perception des intervenants sur les critères de transférabilité des interventions visant la réduction des inégalités face au cancer : une étude de cas

Auteurs : Justine Trompette, Joëlle Kivits, Laetitia Minary, Linda Cambon, François Alla
Inserm-CHU Nancy, CIC-EC, Hôpital Marin, 92 av de Lattre de Tassigny, CO n°34, 54035 NANCY CEDEX

E-mail : justine.trompette@gmail.com

Résumé

Contexte - Les interventions en promotion de la santé (PS) visant la réduction des inégalités sociales et territoriales face au cancer sont dites complexes car fortement dépendantes du contexte dans lequel elles s'insèrent. La transférabilité interroge la mesure dans laquelle un résultat obtenu dans un contexte donné peut être atteint dans un autre contexte. L'outil ASTAIRE propose un accompagnement à l'adaptation des interventions en PS. L'objectif de cette étude est d'analyser la pertinence des critères de transférabilité recensés dans ASTAIRE, leur importance respective et leur influence sur les résultats du point de vue des acteurs de PS.

Méthode - Une étude de cas a été menée à partir d'une recherche-action, Pralimap, intervention visant à améliorer les connaissances, attitudes et comportements nutritionnels de lycéens de 24 établissements lorrains. Des hypothèses expliquant comment une intervention est supposée produire ses effets ont été générées pour chaque critère d'ASTAIRE.

Résumés des posters

Les informations ont été recueillies par entretiens qualitatifs semi-directifs auprès des acteurs ayant participé à l'intervention.

Résultats - Vingt-trois acteurs ont été interviewés. Cinq facteurs importants de transférabilité sont mentionnés : 1) les modalités d'intervention dont la communication autour du projet ; 2) les modalités de mobilisation des acteurs (degré d'implication dans le projet, niveau d'investissement de la direction des établissements); 3) les compétences des acteurs mettant en œuvre l'intervention (capacité à travailler en équipe); 4) l'accompagnement des intervenants au transfert de l'action ; 5) la stabilité des équipes.

Conclusion - Notre travail contribue à une meilleure compréhension des facteurs de transférabilité. La perception que les acteurs ont de ces facteurs est essentielle car elle est facteur de mobilisation, de mise en œuvre et de transférabilité, et donc garante du succès des interventions visant la réduction des inégalités face au cancer.

6

Cohorte vaccinale contre l'infection HPV en Alsace

Auteurs : DELARUE-FRIEDEL Emilie¹, FENDER M. J., BALDAUF J.J. ²

¹ Association EVE - 69 route du Rhin - 67400 ILLKIRCH France

² Hôpital de Hautepierre - Gynécologie Obstétrique - 67098 STRASBOURG CEDEX France

E-mail : emilie.delarue@association-eve-alsace.fr

Résumé

Contexte

Depuis 2007, la vaccination anti-HPV est conseillée et remboursée. Elle cible maintenant les filles de 11 à 14 ans et en rattrapage jusqu'à 19 ans. Aucun programme de vaccination n'existe. L'Association EVE gère un programme de dépistage organisé du cancer du col de l'utérus en Alsace.

Méthode

Une cohorte des jeunes femmes alsaciennes vaccinées depuis juin 2009 a été créée. Les remboursements obtenus de l'Assurance Maladie sont validés par les jeunes femmes ou les professionnels de santé (PS) notamment en cas de vaccination incomplète.

Ces données seront croisées avec celles du dépistage et avec les registres des cancers pour déterminer si les femmes vaccinées participent au dépistage et/ou présentent des lésions cervicales. L'impact de la vaccination sera évalué par comparaison de la proportion de CIN2+ dans les populations vaccinées versus non-vaccinées.

Résultats

Les premiers résultats sur la pratique vaccinale montrent que les PS ont vacciné en majorité les jeunes filles conformément aux recommandations. Mais la couverture est basse et diminue. En effet, entre 2010 et 2012, seulement 34,6% des alsaciennes âgées de 14 ans en 2010 ont acheté au moins un vaccin. Et si en 2010, 16,9% des alsaciennes de 14 ans ont acheté au moins un vaccin, elles n'étaient que 13,7% en 2011 et 11,0% en 2012.

37,7% des jeunes femmes présentent une séquence de remboursements complète et cohérente, mais 92,2% des jeunes femmes contactées en cas de séquence incomplète ont bien reçu 3 injections.

Discussion

Cette étude pionnière et unique en France montre que :
- la couverture vaccinale est encore faible et diminue ;
- les remboursements ne permettent pas, seuls, une étude précise de cette vaccination en France. Notre cohorte permettra une étude de l'impact réel de la vaccination en population.

Les premières données de lésions cervicales seront disponibles lorsque la cohorte aura atteint 25 ans.

7

Efficacy of a general practitioner training campaign for early detection of melanoma in France

Auteurs : F Grange¹, AS Woronoff,² R Bera,¹ M Colomb,¹ B Lavole,³ E Fournier,² F Arnold,⁴ C Barbe.⁵

¹Service de Dermatologie, Hôpital Robert Debré, Reims; ²Registre des tumeurs du Doubs et du Territoire de Belfort, CHRU de Besançon; ³Réseau de Cancérologie de Champagne-Ardenne, Reims; ⁴Association Départementale des Professions de Santé pour le Dépistage des Cancers, Reims; ⁵Unité d'Aide Méthodologique, Hôpital Robert Debré, Reims, France

E-mail : fgrange@chu-reims.fr

Résumé

Background: No strategy for improving early diagnosis of melanoma has been evaluated so far on a population-basis in France.

Objective: To evaluate the efficacy of a general practitioner (GP) awareness and training campaign in a pilot French geographic region (Champagne-Ardenne), including 1.34 million inhabitants, 1241 GPs, 56 dermatologists and a population-based melanoma registry.

Methods: All GPs received repeated awareness postal mailings in 2008 and 398 (32.1%) attended training sessions organized by 27 dermatologists. The pre- (2005-2007) and post-campaign (2009-2011) periods were compared for: primary endpoint: the world-standardized incidence of very thick melanomas (VTM) (Breslow thickness ≥ 3 mm); secondary endpoints: the mean Breslow thickness; the proportions of VTM and of thin (< 1 mm) melanomas among invasive cases; and the ratio of in situ/all melanoma cases. Similar measures were performed in the control area of Doubs/Belfort territory (655,000 ha), where no similar campaign was carried out.

Results:

The incidence of VTM decreased from 1.07 to 0.71/100,000 inhabitants/year ($p=0.01$), the mean Breslow thickness from 1.95 mm to 1.68 mm ($p=0.06$) and the proportion of VTM from 19.2% to 12.8% ($p=0.01$). The proportion of thin and in-situ melanomas increased from 50.9% to 57.4% ($p=0.05$) and from 20.1% to 28.2% ($p=0.001$), respectively. No significant variation was observed in Doubs/Belfort territory.

Conclusion:

These results strongly support the efficacy of such a campaign targeting GPs and provide a rationale for a larger public-health campaign in France, including training of GPs by dermatologists and encouraging patients to ask their GP for a systematic skin examination.

Résumés des posters

3

Trends of the risk of tobacco-related second primary cancer after a first invasive bladder cancer in France

Auteurs : Joris Muller^a, Jérémie Jégu^{a,b,m} M.D., Pascale Grosclaude^{c,m} M.D., Marc Colonna^{d,m} Ph.D., Brigitte Trétaire^{e,m} M.D., Olivier Ganry^{f,m} M.D. Ph.D., Anne-Valérie Guizard^{g,m} M.D., Simona Bara^{h,m} M.D., Xavier Troussard^{i,m} M.D. Ph.D., Véronique Bouvier^{j,m} M.D., Anne-Sophie Woronoff^{k,m} M.D., Michel Velten^{a,b,l,m} M.D. Ph.D.

a Registre des cancers du Bas-Rhin, Laboratoire d'Épidémiologie et de Santé Publique, EA3430, FMTS, Université de Strasbourg, 4 rue Kirschleger, 67085 Strasbourg, France.

b Service de santé publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 1 place de l'hôpital, 67091 Strasbourg, France.

c Registre des cancers du Tarn, 1, rue Lavazière, BP 37, 81001 Albi, France.

d Registre des cancers de l'Isère, CHU de Grenoble, Pavillon E BP 217, 38043 Grenoble 9, France.

e Registre des tumeurs de l'Hérault, Centre de Recherche, 208 rue des Apothicaires, 34298 Montpellier 5, France.

f Registre des cancers de la Somme, Service Épidémiologie Hygiène et Santé Publique, CHU Nord, 80054 Amiens 1, France.

g Registre général des tumeurs du Calvados, Cancers & Préventions - U 1086 Inserm, Centre François Baclesse, Avenue du Général Harris BP 5026, 14076 Caen 05, France.

h Registre des cancers de la Manche, Centre Hospitalier Public du Cotentin, 46 rue du Val de Saire, 50102 Cherbourg-Octeville, France.

i Registre des hémopathies malignes de Basse-Normandie, Unité Fonctionnelle Hospitalo- Universitaire n° 0350, Centre Hospitalier Universitaire, Avenue de la Côte de Nacre, 14033 Caen, France.

j Registre des tumeurs digestives du Calvados, Cancers & Préventions - U 1086 Inserm, Centre François Baclesse, Avenue du Général Harris BP 5026, 14076 Caen 05, France.

K Registre des tumeurs du Doubs et du Territoire de Belfort, EA3181, Centre Hospitalier Régional Universitaire Saint-Jacques, 25030 Besançon, France.

l Service d'épidémiologie et de biostatistique, Centre Paul Strauss, 3 rue de la Porte de l'hôpital, 67065 Strasbourg, France.

m Francim : Réseau français des registres des cancers, Toulouse, F-31073, France.

E-mail : joris.muller@etu.unistra.fr

Résumé

Context

A recent study showed that the risk of developing an invasive bladder cancer (IBC) among active tobacco users increased over past decades. So, it cannot be excluded that the risk of tobacco-related second primary cancers (SPC) may also have increased. Consequently, the aim of this study was to determine whether the risk of SPC after an IBC has changed over past decades in France.

Methods

Data from ten French population-based cancer registries associated within the K2-France project were used to establish a cohort of patients diagnosed with a first IBC between 1989 and 2004 and followed up until 2007.

The person-year approach was used to estimate standardized incidence ratios (SIRs) of metachronous SPC. Multivariate Poisson regression models were used to assess the proper effect of the period of IBC diagnosis on the risk of SPC.

Results

Among the 10,047 followed patients with a first IBC, 12.8% presented a SPC. The risk of SPC was increased by 60% (95% CI 51%-68%) compared to the overall population. These patients faced a particularly high risk of new malignancy of the lung (SIR=3,17), head and neck (SIR=2,19) or prostate (SIR=1,53). Multivariate analyses showed that the risk of lung SPC was multiplied by 1.45 (95% IC 1.01-2.08) for patients whose IBC diagnosis was made during the last period studied (2001-2004) compared with the first one (1989-1992).

Discussion

Risk of second primary cancer of the lung increased between 1989 and 2007 for invasive bladder cancer patients. This may be explained by a change in the composition of cigarettes during the past years, leading on the one hand to a decrease in tar and nicotine content of cigarette smoke, but on the other hand to an increase in the concentration of specific carcinogens. In consequence, the results of this study add another argument to promote tobacco-cessation interventions among IBC patients.

9

Impact of sociodemographic factors on participation in organised breast cancer screening programmes in France

Auteurs : Samiratou Ouédraogo, Tienhan Sandrine Dabakuyo-Yonli, Adrien Roussot, Carole Pomet, Nathalie Sarlin, Philippe Lunaud, Pascal Desmidt, Catherine Quantin, Franck Chauvin, Vincent Dancourt, Patrick Arveux

CGFL, Centre Georges François Leclerc, 21000 DIJON

E-mail : samioued@yahoo.fr

Résumé

Introduction

Increasing the participation rate in breast cancer screening programmes remains a challenge in many developed countries, particularly in France.

Objective

We investigated factors explaining low attendance in breast cancer screening programme in thirteen French departments.

Patients and Methods

Anonymised data of 13,565 women aged 51-74 years old, randomly selected between those invited to attend an organised mammography screening session between 2010 and 2011 have been examined. Information on women's participation and their individual characteristics were provided by institutions in charge of organising screening programme in each department. The characteristics of the women's area of residence were also recorded and data were analysed in a multilevel model.

Results

Between 2010 and 2012, 7,121 (52.5%) women of the studied population had their mammography examination after they received the invitation. Women living in the most deprived neighbourhood were less likely than those living in the most affluent neighbourhood to participate in breast cancer screening programmes (OR 95%CI = 0.84[0.78-0.92]) as were those living in rural areas compared with those living in urban areas (OR 95%CI = 0.87[0.80-0.95]).

Résumés des posters

Being self-employed ($p < 0.0001$) or living more than 15 minutes away from an accredited screening centre ($p = 0.02$) were also barriers to participation in breast cancer screening programmes.

Conclusion

Despite the classless delivery of breast cancer screening programmes, inequalities in uptake remain. To take advantage of prevention and to avoid exacerbating disparities in cancer mortality, breast cancer screening programmes should be adapted to women's personal and contextual characteristics.

10

Validation et hiérarchisation de critères de survie composites en tant que critères substitutifs à la survie globale : le projet DATECAN2

Auteurs : Vernerey d¹, Bellara c^{3,4}, Savina m^{3,4}, Gourgou-Bourgade s⁵, Laghzali y⁵, Fiteni f¹, Collette l⁶, Doussau a^{4,7,8}, Kramar a⁹, Dabakuyo s¹⁰, Mathoulin-pellissier S^{3,4,8}, Bonnetain f^{1,2}

¹ Unité Méthodologie et Qualité de Vie en Oncologie, EA3181, CHU Besançon

² Centre de Traitement des Données, CTD-INCa, GERCOR

³ Unité de Recherche Épidémiologique et Clinique, Institut Bergonié, Centre de Lutte Contre le Cancer de Bordeaux et Centre de Traitement des Données CTD INCa, Bordeaux

⁴ INSERM, Centre d'Investigation Clinique - Épidémiologie Clinique CIC-EC 7, Bordeaux

⁵ Unité de Biostatistique, ICM - Institut régional du Cancer Montpellier et Centre de traitement des données CTD INCa, Montpellier

⁶ Département de Statistique, EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer), Bruxelles

⁷ CHU de Bordeaux, Pôle de santé publique, Service d'information médicale, Bordeaux

⁸ Université de Bordeaux, ISPED, Centre INSERM U897 - Épidémiologie-Biostatistique, Bordeaux

⁹ Unité de Méthodologie et Biostatistique, Centre Oscar Lambret, Centre de Lutte Contre le Cancer Lille

¹⁰ Unité de Biostatistiques et d'Épidémiologie Clinique, Plateforme Qualité de Vie et Cancer, EA4184, Centre Georges François Leclerc, Centre de Lutte Contre le Cancer, Dijon

E-mail : dvernerey@chu-besancon.fr

Résumé

Introduction

Dans les essais cliniques randomisés (ECR) en cancérologie, les progrès thérapeutiques ont conduit à l'utilisation de critères de jugements autre que la survie globale (SG), comme la survie sans progression. Récemment, l'« initiative DATECAN » a permis de proposer des recommandations pour la définition et donc l'homogénéisation entre ECR de ces critères. Le prochain objectif de ce projet de recherche consiste à établir une validation puis une hiérarchisation de ces critères en fonction de leurs propriétés de substitution à la SG, selon la localisation cancéreuse, le traitement et la situation (adjuvant / métastatique).

Matériels et Méthodes

Dans ce contexte, nous proposons de présenter le concept du projet DATECAN2 ainsi qu'une description succincte des méthodes statistiques permettant la validation et la hiérarchisation des critères de substitution. Nous décrivons les critères de Prentice et la proportion d'effet traitement expliquée (PE) de Freedman dans le cadre d'une approche par essai. L'approche méta-analytique sera ensuite présentée ; celle-ci repose sur une régression linéaire pondérée ou

sur une modélisation conjointe de deux critères, afin de mesurer le coefficient de corrélation (R²) entre le critère de substitution candidat et la SG. Ces résultats (R² et/ou PE) ainsi que le classement de Fleming permettront de hiérarchiser les critères étudiés selon leurs propriétés substitutives de la SG.

Résultats

Cette revue méthodologique permettra de guider les analyses statistiques qui seront implémentées dans le cadre du projet DATECAN-2 dont l'objectif est l'évaluation des propriétés de critères de survie composites en tant que critères de substitution pour la SG. Cette étape sera réalisée à partir d'une sélection d'ECR publiés dont les bases de données sont disponibles auprès de groupes coopérateurs (EORTC, UNICANCER, etc).

Conclusions

L'évaluation des propriétés de substitution à la SG des critères de jugement nous permettra de décrire le critère le plus pertinent dans chaque situation clinique.

Recherche Translationnelle

11

Constitutively active androgen receptor variants upregulate expression of mesenchymal markers in prostate cancer cells

Auteurs : [Félicie Cottard](#)¹, Irène Asmane^{1,2}, Eva Erdmann¹, Jean-Pierre Bergerat^{1,2}, Jean-Emmanuel

Kurtz^{1,2}, Jocelyn Céraline^{1,2}

1 INSERM U1113, Team 3 « Cell signalling and communication in kidney and prostate cancer », University of Strasbourg, France

2 Haematology and Oncology Unit, Strasbourg University Hospital, France

E-mail : felicie.cottard@etu.unistra.fr

Résumé

Androgen receptor (AR) signaling pathway remains the main target of novel therapeutics for castration-resistant prostate cancer (CRPC). However, constitutively active AR variants lacking the carboxy-terminal region in CRPC lead to therapy inefficacy. Moreover, recent studies suggest that AR variants are expressed in primary prostate tumors and may contribute to tumor progression. The aim of this study was to investigate the impact of AR variants on the expression of tumor progression markers. N-cadherin expression was analyzed in LNCaP cells overexpressing the wild type AR or a constitutively active AR variant by qRT-PCR, Western blot and immunofluorescence. We showed here for the first time that N-cadherin expression was increased in the presence of constitutively active AR variants. Moreover, this increased expression of N-cadherin in LNCaP overexpressing AR variants was negatively regulated by androgens. Although N-cadherin expression is often associated with a downregulation of E-cadherin, this phenomenon was not observed in our model. Nevertheless, in addition to the increased expression of N-cadherin, an upregulation of other mesenchymal markers expression such as VIMENTIN, SNAIL and ZEB1 was observed in the presence of constitutively active AR. In conclusion, our findings highlight novel consequences of constitutively active AR variants on the regulation of mesenchymal markers in prostate cancer.

12

Etat du développement de 2 projets de recherche translationnelle : PK Mab et EVER IMMUN

Auteurs : [Elsa CURTIT](#), BERNHARD Sandrine, ROYER Bernard, ADOTEVI Olivier, VILLANUEVA Cristian, CHAIGNEAU Loïc, BAZAN Fernando, CALS Laurent, MANSI Laura, JARY Marine, THIERY-VUILLEMIN Antoine, NGUYEN Thierry, MONTCUQUET Philippe, BORG Christophe, PIVOT Xavier

CHU Besançon, Chimiothérapie - oncologie, CHU Jean Minjoz, 3 bd Alexandre Fleming, 25030 BESANCON cedex

Université de Franche-Comté, Unité Mixte de Recherche 1098, SFR IBCT, F-25020 Besançon Cedex, France

E-mail : elsa.curtit7@wanadoo.fr

Résumé

Contexte

L'oncologie bénéficie depuis une dizaine d'années de l'apport des thérapies ciblées. Néanmoins, de nombreux paramètres pharmacologiques ou immunologiques associés à ces thérapies ciblées restent inconnus. L'objectif de ces 2 projets de recherche translationnelle est d'étudier des facteurs immunologiques et pharmacocinétiques modélisés en recherche fondamentale sur des cohortes de patients et d'évaluer leur rôle pronostique, prédictif et leur intérêt en tant que biomarqueurs.

Objectifs

L'étude PK Mab a pour objectif d'étudier les facteurs influençant la pharmacocinétique du trastuzumab et du bévacizumab, notamment l'impact de la co-prescription d'anticorps monoclonaux, la durée du traitement, le polymorphisme du gène FCnR, le taux d'anticorps (IgG) circulants total, facteurs non décrits dans la littérature.

L'étude EVER IMMUN a pour objectif de mesurer les réponses immunitaires cellulaires spontanées anti-tumorales chez des patientes atteintes de cancer du sein métastatique traitées par évérolimus, un inhibiteur de mTOR dérivé de la rapamycine et d'étudier la pharmacocinétique de l'évérolimus.

Méthodes

Les dosages biologiques seront réalisés par les plateformes d'immunomonitoring (UMR 1098) et de pharmacocinétique (CHU de Besançon). Les techniques de dosage sérique du trastuzumab, du bévacizumab et de l'évérolimus sont mises au point. Les réponses immunitaires seront étudiées par cytométrie en flux, techniques ELISpot et ELISA. Il est prévu d'inclure 212 patients recrutés sur le Grand Est (100 pour PK Mab et 112 pour EVER IMMUN). Les autorisations administratives (Comité de Protection des Personnes et Agence Nationale de Sécurité du Médicament) sont obtenues. Les analyses statistiques et la base de données seront réalisées en partenariat avec l'Observatoire des Cancers de Franche-Comté (autorisation CNIL du 10 Janvier 2013) et l'Unité de Méthodologie et Qualité de vie en Cancérologie de Besançon.

13

INFRARED IMAGING AS A NOVEL METHOD TO EVALUATE THE EFFICACY OF A LOCOREGIONAL TREATMENT IN A VX2 TUMOR MODEL

Auteurs : H. D'Inca¹, SH. Ghegediban², M. Wassef², C. Gobinet¹, J. Namur³, F. Pascale⁴, A. Laurent⁴, ⁵ and M. Manfait¹

¹ MéDIAN, Université de Reims FRE CNRS 3481, Unité MEDyC, Reims, France

² APHP- Lariboisiere Hospital, Dept of Pathology, Paris, France

³ ArchimMed SARL, Jouy-En-Josas, France

⁴ CR2i APHP- INRA, Jouy-En-Josas, France

⁵ APHP- Lariboisiere Hospital, Dept of Interventional Neuroradiology, Paris, France

E-mail : hadrien.dinca@etudiant.univ-reims.fr

Résumé

The rabbit Vx2 tumor is a fast-growing carcinoma model, which is commonly used to study different aspects of tumor behaviour under cancer treatments. Reduction of tumor viability and the degree of induced necrosis are the most common criteria to evaluate the efficacy of cancer treatments. Our objective was to use infrared imaging (IRIM) combined with a linear discriminant analysis (LDA) predictive model to quantify the necrotic effect and the reduction of tumor viability induced by doxorubicin eluting implants (DEI) at the preclinical stage. We included 12 rabbits with Vx2 liver tumor at the same developing stage. A pool of 3 rabbits were subjected to locoregional DEI treatment and compared to a control pool of 9 rabbits. After 24h DEI treatment, tumor bearing livers are resected, fixed in formalin and embedded in paraffin. On 2 consecutive sections of paraffin-embedded Vx2 tumors, we performed hematoxylin-eosin-saffron (HES) staining and IRIM. Spectral images were subjected to the LDA model analysis. At each step, we validated the LDA model results by evaluating the corresponding results obtained from LDA and HES images. The correlation between the LDA and HES images was satisfactory for the viable tumor tissue and tumor necrosis tissue. The sensitivity and specificity of the LDA model was 92.91% and 94.6% respectively for tumor necrosis, and 83.56% and 94.82% for viable tumor. For the DEI group, the LDA model determined that the surface of viable tumor represented 0.24±5% of the tumor (CTRL group: 55.71±17%, $P < 0.0001$) and the necrotic tissue 66.46±20% of the tumor (CTRL group: 18.45±12%, $P < 0.0001$). The remaining percentages corresponded to tumor stroma and fibrosis capsule surrounding the tumor. Our results show that IRIM in combination with LDA model analysis could be helpful to easily assess the treatment efficacy. Our aim is now to increase the number of rabbits in the DEI group and use this approach to study the performances of different drug eluting implants.

14

Prognostic value of Angiopoietin 2 for metastatic colorectal carcinoma patients treated by chemotherapy and bevacizumab

Auteurs : E. Dobi, M. Jary, T. Lecomte, F Ghiringhelli, F. Monnier, J. Leger, O. Bouché, L. Queiroz, O. Adotevi, S. Fratte, S. Kim, C. Borg

Université de Franche-Comté, Unité Mixte de Recherche 1098, SFR IBCT, F-25020 Besançon Cedex, France

Department of Medical Oncology, University Hospital Jean Minjot, 3 bd Fleming, F-25030 Besançon Cedex, France

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

Résumé

Background

Angiogenesis is a complex mechanism implicated in carcinogenesis and associated with tumor progression. Nevertheless, specific prognostic biomarkers related to angiogenesis are still lacking in metastatic colorectal cancer (mCRC) patients. Angiopoietin-2 (Ang-2), which binds the Tie-2 receptor, is involved in the regulation of vascular remodeling. Its seric level has been proposed as a possible prognostic biomarker in mCRC patients treated with bevacizumab containing therapy. Then, we decided to conduct a validation study in order to characterize the prognosis value of Ang-2. For this purpose, baseline plasmatic levels of Ang-2 were monitored in two independent prospective studies including mCRC patients treated with chemotherapy and bevacizumab.

Material and Method

Plasmatic Ang-2 was measured in healthy volunteers, and in 51 patients with first-line mCRC treated with bevacizumab containing chemotherapy in a prospective phase II clinical trial, the "cohort set-1". Patient plasma samples were taken at baseline. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) were used to measure Ang-2 in plasma samples. We determined cut-off value of Ang-2 levels using ROC curve for treatment response. A second independent set of 126 mCRC patients, prospectively included in a multicentric clinical trial, was used as the "cohort set-2".

Results

In a preliminary set of experiments, Ang-2 levels remained below 5ng/mL in all healthy volunteers ($n=10$). The "cohort set-1" and "cohort set-2" included respectively 51 and 126 patients treated for first-line mCRC and for whom baseline plasma were available. In these patients, high Ang-2 levels were correlated to a decreased median progression free survival (PFS) and overall survival (OS) (8.6 vs 11.8 months, $p=0.001$; and 15.7 vs. 31 months, $p=0.001$; respectively). Response rate was also higher in patients with low Ang-2 levels (69.8% vs 48.3%, $p=0.008$). Multivariate analysis with Cox regression showed that increased LDH (HR=2.1, 95%CI: 1.1-3.9, $p=0.02$) and Ang-2 high level (HR=1.9, 95%CI:1-3.7, $p=0.04$) were two significant prognostic factors for OS.

Conclusion

These results confirm the negative impact of high Ang-2 levels on mCRC patient's prognosis. Interestingly, along with LDH, Ang-2 might be used at the baseline to determine mCRC prognosis. The potential interest of this parameter to stratify patients in clinical trials should be investigated prospectively.

Résumés des posters

15

Combinaison de la SPR (surface Plasmon Resonance) et de différentes approches de spectrométrie de masse pour la caractérisation et la quantification de protéines en milieu complexe :

Exemplification par le screening d'une banque d'anticorps nanobodies produite contre du tissu cancéreux gastrique

Auteurs : DUCOROY Patrick, Marven El Osta, Fabien Remy-Martin, Benoit Simon, Alain Rouleau, Géraldine Lucchi, Wilfrid Boireau

Plate-forme Protéomique IFR-100, Etablissement Français du Sang, 21000 DIJON

E-mail : patrick.ducoroy@clipproteomic.fr

Résumé

La plate-forme analytique SUPRA-MS combine deux approches technologiques la Surface Plasmon Resonance (SPR) permettant la détection et la quantification multiplex de phénomènes d'interactions moléculaires et la spectrométrie de masse permettant l'identification, la quantification et la caractérisation des molécules interrégissant.

Cette plate-forme d'analyse est un outil puissant pour la détection et la quantification de formes variantes de protéines humaines décrits comme marqueur de pathologie cela à partir de l'échantillon tel le plasma ou extraits de cellules/tissus.

Pour aller plus loin dans l'analyse la plateforme CLIPP a mis en place une nouvelle méthode basée sur l'élution de molécule de surface par l'utilisation de la technologie TriVersa NanoMate LESA (Liquid analyse de surface d'extraction) de la société Advion combiné à un spectromètre de masse LTQ Elite-Orbitrap. Avec ces nouveaux développements, la même biopuce après analyse SPRi peut être utilisée pour répondre à deux demandes: 1) une analyse SPRi-MALDI-MS directe, qui est avantageusement utilisée pour capturer des protéines connues à l'aide de plusieurs anticorps immobilisés sur une biopuce à protéine avec l'avantage d'une grande sensibilité, haute spécificité, d'un format multiplex à haut débit et 2) une analyse SPRi-ESI-MS directe, qui est avantageusement utilisée pour une analyse MS et MS/MS sur un grand nombre de peptides avec une grande sensibilité afin d'identifier et de caractériser l'ensemble des partenaires inconnus du complexe de protéines capturées et / ou la caractérisation fine de l'antigène inconnu ciblé par certains anticorps.

La complémentarité de ces deux approches technologiques basées sur le même concept sera illustrée à travers deux études différentes notamment le screening d'une banque d'anticorps « nanobodies » produite contre du tissu cancéreux gastrique après immunisation de lamas.

16

La claudin 4 et les récepteurs aux androgènes sont associés à une signature immunohistochimique des tumeurs du sein triple négatif permettant de prédire leur risque de récidive.

Auteurs : Dudez Oriane, Garbar-Mascaux C., Mombelli S., Curé H., Bensusan A. Garbar C.

Institut Jean Godinot, Reims

E-mail : oriatedudez@live.fr

Résumé

INTRODUCTION

La plupart des cancers du sein peut être classée en fonction de l'expression des récepteurs aux oestrogènes (RO), à la progestérone (RP) ou de HER2. Les cancers n'exprimant pas de marqueur sont appelés « triple négatif » (TN). Ils sont classés en TN basal (TB) exprimant les cytokératines basales (5/6 ou 14) ou l'EGFR et TN non basal (TN). Cliniquement ces cancers sont plus agressifs et difficiles à traiter. Le but de ce travail est de rechercher les patientes à risque de récidive.

METHODE

Les examens immunohistochimiques suivants ont été réalisés sur 70 patients (TMA) : RO, RP, Her2, récepteurs aux androgènes (RA), cytokératine AE1-AE3, 5/6, 14, EGFR, claudin 4, et Ki67. Le temps de suivi clinique était de 134 +/- 90 semaines pour les TB et de 139 +/- 81 semaines pour les TN. La fréquence des récidives est de 25.0% (10/40) pour les TB et de 44.4% (4/9) pour les TN, p = ns. Le facteur pronostique discriminant est le temps de récidive construit à partir des courbes de Kaplan-Meier.

RESULTATS

Les courbes de Kaplan-Meier montrent que les récidives sont plus fréquentes dans le groupe des TN vs TB (Log Rank = 0.87, p = 0.78), chez les patients n'exprimant pas les RA (Log Rank = 0.07, p = 0.08) et chez les patients n'exprimant pas la claudin 4 (Log Rank = >0.001, p = >0.001). Le taux de récidive des patients TN exprimant les RA est similaire aux TB. Le taux de récidive des patients TB n'exprimant pas la claudin 4 est similaire aux TN. Deux groupes à risques peuvent être construits : le groupe à bas risque de récidive comprenant les TB + TN RA+ (6/34, 17,6%) et un groupe à haut risque de récidive comprenant les TN + TB claudin- (8/15, 53,3%). La courbe de Kaplan-Meier entre ces 2 groupes est significative (Log Rank = 0.0028, p = 0.0068).

CONCLUSION

La classification des cancers du sein triples négatifs repose principalement sur la distinction des cancers triples négatifs exprimant ou non les cytokératines de bas poids moléculaire CK5/6/14 et/ou de l'EGFR. L'adjonction de 2 immuno-marqueurs que sont les RA et la claudin 4 permet de classer ces tumeurs en 2 groupes dont l'un présente 3x plus de risques de récidive.

17

MICROPARTICLES: AN ORIGINAL TOOL TO PROPOSE NEW POTENTIAL CANDIDATE BIOMARKERS FOR LYMPHOMA DIAGNOSTIC USING PROTEOMIC APPROACHES

Auteurs : Luc-Matthieu FORNECKER, S. LENNON, L. MIGUET, C. CARAPITTO, A. VAN DORSSELAER, L. MAUVIEUX, S. CIANFERANI

Laboratoire de Spectrométrie de Masse BioOrganique (LSMBO), Institut pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC), Département des Sciences Analytiques - CNRS, UMR 7178

E-mail : luc.fornecker@etu.unistra.fr

Résumé

One of the major difficulties in large scale proteomic analysis concerns the sample complexity and the large dynamic range of protein abundances. To overcome this problem, one solution is to work on subproteomes in order to enrich the sample in proteins of interest. Our project aims to develop new proteomic approaches to search new biomarkers specific of mature B-cell malignancies.

Microparticles (MPs) are small vesicles naturally generated by cells and can be generated by an antibiotic stimulation, strategy used in our approach. Our proteomic approach consisted in a 1D SDS PAGE gel separation, followed by optimized nanoLC-MS/MS and identification in databases. A first study demonstrated the potential interest of working on MPs, which were shown to be enriched in membrane proteins. In a second study, one biomarker was proposed: the CD148 as potential candidate biomarker for mantle cell lymphoma and validated on more than 200 patients by flow cytometry. In a third study, a differential proteomic analysis was applied to compare the membrane proteomes originating from different types of lymphoma. The CD180 was found to be normally expressed in marginal zone lymphoma compared to other pathologies. It has been validated on more than 200 patients by flow cytometry. But, induction of MPs from white blood cells in the context of lymphoid malignancies has some limitations (it is necessary to collect enough tumor cells from peripheral blood, thus it restricts the studies to lymphoproliferative disorders with leukemic phase). Circulating MPs, isolated from plasma, are known to be detectable in blood under physiological or pathological conditions. We decided to investigate the differences between induced and circulating MPs. Results showed that the large majority of circulating MPs derived from platelets. On the contrary, induced MPs originated predominantly from lymphoid cells. Mass spectrometry analysis confirmed this difference with much more protein identified in samples containing induced MPs. However we were able to detect CD45 in circulating MPs, suggesting that a fraction originated from lymphoid cells. Further investigations are necessary and ongoing to assess the potential role of circulating MPs as biomarker in hematologic malignancies.

18

Combination therapy for the treatment of glioblastoma: association of the tyrosine kinase receptors inhibitor Sunitinib and the transmembrane peptide targeting Neuropilin-1 (MTP-NRP1)

Auteurs : Justine Fritz, Aurore Fernandez, Alexia Arpel, Laurent Jacob, Lionel Meyer, Gérard Crémel, Dominique Bagnard

INSERM Unit 1109 The Microenvironnemental Niche in Tumorigenesis and Targeted Therapy-MN3T, University of Strasbourg

E-mail : justinefritz90@gmail.com

Résumé

The median survival of patients with glioblastoma multiform, the most common intracranial tumor, is not exceeding 15 months. This poor prognosis indicates the inefficiency of the current therapeutic arsenal. To improve patient outcome, it is mandatory to find new therapeutic options, more efficient and counteracting the observed mechanism of resistance. We had developed in the lab a novel strategy based on the use of a peptide (MTP-NRP1) disrupting the neuropiline-1 receptor (NRP1) signaling platform by antagonizing its transmembrane domain. As previously described, this peptide inhibits the growth of glioblastoma cell lines in various *in vivo* models (C. Nasarre, et al. Oncogene 2010). Here decided to challenge MTP-NRP1 with Sunitinib (SUTENT®), a large spectrum tyrosine-kinase receptor inhibitor already in clinical use for various cancer types. We also evaluated the benefit of a combination of the two drugs in an *in vivo* intracranial orthotopic xenograft model (human glioblastoma cell line transplanted in the brain of immunodeficient mice). Strikingly, our results show that MTP-NRP1 impacted tumor growth in range similar to Sunitinib while injected to the mice at a concentration x40 000 lower. Moreover, we observed a promising beneficial effect of the combination compared to the monotherapies. Indeed, the association of Sunitinib and MTP-NRP1 induced a significant additional decrease of the tumor volume. Furthermore, the combination also further significantly reduced tumor angiogenesis as demonstrated by the decrease of the vascular marker CD31. Hence, the combination appeared well-tolerated because we observed no histological sign of tissue damage (in the liver and kidney) while blood and urinary markers were satisfactory. While too preliminary to conclude, this study may provide an interesting therapeutic scheme.

Minimal Residual Disease detection with tumour specific CD160 correlates with event free survival in Chronic Lymphocytic Leukaemia

Auteurs : Jerome Giustiniani¹, Timothy W. Farren^{2,3}, Mariam Fanous³, Fengting Liu³, Marion G. Macey², Michael Jenner², Faith Wright⁴, Archie Prentice⁴, Amit Nathwani⁵, Christian Garbar¹, Armand Bensussan¹ and Samir G. Agrawal^{2,3}

¹Laboratoire de Thérapie Cellulaire, Institut Jean Godinot, 1 Avenue du Général Koenig, B.P 171 51056 Reims France;

²Department of Haemato-Oncology and Immunophenotyping Section, Barts Health NHS Trust, London; ³Pathology Group, Billzard Institute, Queen Mary University of London; ⁴Department of Haematology, The Royal Free Hospital, London, UK; ⁵UCL Cancer Institute, University College London, London, UK

E-mail : jerome.giustiniani@reims.unicancer.fr

Résumé

Contexte : The concept of minimal residual disease (MRD) assessment and eradication in chronic lymphocytic leukemia (CLL) is still considered a novel approach to patient care. MRD assessment in CLL can be demonstrated using either flow cytometry or allele-specific polymerase chain reaction (ASO-PCR).¹⁻² Although ASO-PCR has a high sensitivity, it is complex in nature, expensive and a pretreatment sample is a prerequisite. The European Research Initiative on CLL (ERIC) have proposed an international standardised approach (ISA) after extensive analysis of antibody combinations and a comparison against realtime quantitative allele-specific oligonucleotide Ig heavy chain gene PCR (RQ-ASO IGH-PCR).¹

In this context, the recent description of the restricted expression in the B-cell lineage of the cell surface marker CD160 to malignant, but not normal, B-cells makes it an ideal candidate marker for MRD detection³. There is near universal expression of CD160 in CLL was established using the CD160 flow cytometric assay (CD160FCA)³. In this report, we have investigated the utility of CD160FCA for MRD detection in CLL and compared it to the current recommended gold standard.

Method: A single tube flow cytometry assay incorporating CD160 (CD160FCA) was compared to RT-PCR for CD160 and the International Standardised Approach (ISA) of the ERIC group to assess MRD following chemo± immunotherapy for CLL. 192 patients were enrolled. Event free survival (EFS) curves were evaluated by Kaplan-Meier Mantle-Cox analysis.

Results: In experiments spiking CLL cells in normal blood, CD160FCA detected to a level of one malignant cell in 104 (p<0.001). In a pilot cohort (n = 52), a comparison of CD160FCA with qualitative PCR for CD160 mRNA showed 49/52 concordant MRD results (p<0.001). In paired peripheral blood and bone marrow samples (n=35), CD160FCA gave identical results, (p<0.001). Comparison between CD160FCA and the ISA methodology showed that both assays performed well with high concordance (p<0.01). Patients in complete remission (CR) (n=43), and CD160FCA MRD negative, had longer EFS compared with CD160FCA positive patients (63 vs 16 months, p<0.01).

Conclusion: CD160FCA offers a simple, single-tube flow cytometric assay for MRD detection in CLL, giving equivalent results in PB and BM even after immunotherapy. CD160FCA independently predicts EFS in CLL.

References:

Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M et al: International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia* 21:956-64, 2007

van Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M et al: Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia* 17:2257-317, 2003

Farren TW, Giustiniani J, Liu FT et al: Differential and tumour-specific expression of CD160 in B-cell malignancies. *Blood* 118:2174-83, 2011

Dosimétrie par mesure de Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) de pastilles d'alanine : étude de faisabilité pour une utilisation en radiothérapie

Auteurs : Perrine KOELL, P. Meyer, N. Dehaynin, S. Guihard, P. Truntzer, V. Ganansia, F. Kuntz, G. Noël

Centre de Lutte Contre le Cancer Paul Strauss, EA-3430, Laboratoire de Radiobiologie, Strasbourg, France

E-mail : PKoell@strasbourg.unicancer.fr

Résumé

Contexte : La dosimétrie utilisant l'alanine analysée par RPE est couramment utilisée dans l'industrie pour évaluer de fortes doses d'irradiation (> 100 Gy). Certaines propriétés des dosimètres à l'alanine pourraient être intéressantes pour des applications en radiothérapie. Le travail présenté est une étude de faisabilité concernant l'utilisation de ces dosimètres pour mesurer des doses mises en œuvre en radiothérapie.

Méthode : Un travail de métrologie a été réalisé afin d'optimiser les réglages du spectromètre et de sélectionner une méthode de mesure appropriée. Une étude clinique portant sur des patients atteints de cancer des voies aéro-digestives supérieures (VADS) a été mise en place. Une paire de dosimètres est positionnée dans le masque de contention, en 3 localisations. L'un des dosimètres permet de mesurer la dose reçue à chaque séance et l'autre la dose cumulée sur l'ensemble du traitement. L'étude est actuellement en cours.

Résultats : Les réglages du spectromètre ont été optimisés pour les gammes de doses 1 à 10 Gy et 7 à 70 Gy. Les méthodes de mesure ont permis d'obtenir des mesures de doses avec un erreur systématique inférieure à 1,5% et des erreurs de reproductibilité d'environ 5% entre 1 et 2 Gy et inférieures à 3% à partir de 5 Gy.

Concernant l'étude clinique, 8 patients ont terminé ou arrêté leur traitement (17 à 33 séances) : sur les 24 localisations correspondantes, les doses mesurées sont comprises entre 0,1 et 2,2 Gy et l'écart type sur l'ensemble des séances est de 0,16 +/- 0,04 Gy. Pour les doses cumulées sur 5 séances, on observe pour les valeurs supérieures à 5 Gy un écart-type inférieur ou égal à 3%.

Discussion : Les résultats de cette étude sont encourageants à ce stade et devraient donner au terme de l'étude des indications sur les possibilités d'utilisation de ces dosimètres les plus appropriées (archivage de doses cumulées, traitements hypofractionnés...)

Résumés des posters

21

La pluridisciplinarité : un puissant outil pour la recherche contre le cancer

Auteurs : Patrice Laquerriere, P. Marchand, V. Bekaert, A. Ouadi, D. Brasse

CNRS - Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, UMR 7178 - DRS - Groupe IMABIO, 23, rue du Loess 67037 Strasbourg cedex 02

E-mail : patrice.laquerriere@iphc.cnrs.fr

Résumé

From the beginning of 1970's until now, more than a thousand of [18F]fluorine labeled compounds have been synthesized and studied. The development of those molecules for molecular imaging is closely related to the emergence of the PET technic. PET is one of the most sensitive imaging modality (with SPECT) with a detectability at the pM level. In the cancer field, the most known molecule is the FluoroDeoxyGlucose (FDG). It is used every day in clinics and preclinical studies for diagnostic or to evaluate cancer progression or regression during treatment.

A review on [18F]-labelled compounds and their applications would be desirable to have a global view of the work performed these past 40 years. Due to the large amount of compounds and references to include a database was preferred to a classical review. DIRAC (Database of Imaging RAdiolabelled Compounds, <http://www.iphc.cnrs.fr/dirac>) is an open access database containing 1312 [18F]-radiolabelled compounds published from 1971 to 2013. The content has been created using editors web sites, reviews, articles and search engines (PubMed and Web of knowledge). Each compounds card contains synthetic data related to the radio-synthesis and biological applications.

DIRAC is a strategic tool to develop new radiolabeled compounds and represents today the starting point of emerging collaborations. Once the target is defined and the molecule found in the database, our cyclotron is used to produce the 18-F isotope and the multimodality preclinical imaging platform allow us to estimate the bio-distribution of the radiolabelled compound. Up to now, our molecular imaging platform combining a newly installed cyclotron and preclinical PET system is mostly dedicated to 18-F isotope. However, we have the capacity to investigate new compounds labeled with other isotopes such as 64-Cu, 89-Zr with longer half-lives to observe the bio-distribution of macromolecules in a larger time scale. These emerging preclinical PET activities reinforce the existing optical/SPECT/CT research platform. This molecular imaging platform represents a rare and powerful pluridisciplinary tool in the Canceropole Grand-Est.

22

Nouveaux concepts de calculs dosimétriques en radiothérapie basés sur l'intelligence artificielle

Auteurs : L. MAKOVICKA, A.VASSEUR M. SAUGET, E. MARTIN, R.GSCHWIND, M. SALOMON, J. HENRIET, R.LAURENT, P.E. LENI, J.M. ROUVIER

CNRS UMR6000, Département CREST - Caractérisation des Rayonnements, des Ecoulements, des Sur 25211 Montbéliard

E-mail : libor.makovicka@pu-pm.univ-fcomte.fr

Résumé

Contexte:

L'objectif de cette communication est de partager l'expérience acquise ces dernières années par l'équipe IRMA (Informatique&Radiation Physics for Medical Applications) de CE UMR 6249 CNRS, en collaboration avec les Services de Radiothérapie CHUR et l'équipe AND/FEMTO-ST, dans l'introduction de techniques informatiques peu connues en radiothérapie qui est présente pourtant dans plus que la moitié des traitements (3 thèses soutenues, 3 droits d'auteur déposés, plusieurs publications sur le sujet).

Matériels et méthodes:

Les codes de calculs Monte Carlo (MC), précis mais lents, sont devenus des outils incontournables dans la grande majorité des spécialités liées à la radiophysique (radiothérapie externe, médecine nucléaire...) et la radioprotection. Cependant, leur lenteur freine leur utilisation en routine clinique. Une réflexion a donc été menée sur l'opportunité d'implémenter d'autres solutions informatiques qui ne seraient pas seulement basées sur l'unique puissance informatique ou sur un « biaisage » permettant une relative accélération des calculs MC dans les cas des rayonnements photoniques, mais sur des méthodes plus judicieuses (RNA-réseaux de neurones artificiels, RàPC- raisonnement à partir de cas), déjà utilisées avec succès depuis longtemps dans certaines applications scientifiques ou industrielles dans des domaines souvent éloignés de la radiothérapie et de la dosimétrie médicale.

Résultats:

Les résultats spectaculaires obtenus dans les calculs de distribution de dose en présence d'hétérogénéité comparés à ceux du TPS (treatment planning system), dans le suivi du mouvement pulmonaire et dans la reconstitution des fantômes personnalisés mettent en évidence des améliorations au niveau de la rapidité des calculs (facteur 10-1000), de la précision et de la radioprotection du patient.

Conclusion:

Ces résultats prometteurs offrent non seulement de nouvelles perspectives de recherche en dosimétrie médicale et en radioprotection mais aussi en routine clinique où ils peuvent conduire vers le contrôle qualité indépendamment des TPS utilisés.

Résumés des posters

23

La culture cellulaire en 3D est un outil de recherche in vitro plus pertinent que la culture en 2D pour l'étude de la résistance des cancers coliques (CC) à une chimiothérapie par 5-fluorouracile (5-FU) et oxaliplatine (FOLFOX). Premières données en faveur de l'implication de la protéine d'efflux ABCG2.

Auteurs : Prévost F^{1,2}, Lechevrel M¹, Quesnelle C¹, Reimund JM^{1,2,3,4}

Université de Caen Basse - Normandie, UFR de Médecine, EA 4652 (Laboratoire « Microenvironnement Cellulaire et Pathologies »), SF ICORE 4206, CHU de Caen, 14032 Caen Cedex
Service d'Hépatogastro-Entérologie et Nutrition, Pôle Médecine d'Organes et Cancérologie, CHU de Caen, CS 30001, 14033 Caen Cedex 9

Laboratoire « Voies de signalisation du développement et du stress cellulaire dans les cancers digestifs et urologiques », Unité INSERM 1113, UFR de Médecine, Université de Strasbourg, 3 avenue Molière, 67200 Strasbourg

Service d'Hépatogastroentérologie et d'Assistance Nutritive, Pôle des Pathologies Digestives, Hépatiques et de la Transplantation, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, 1 Avenue Molière, 67098 Strasbourg Cedex

*Adresses professionnelles actuelles : 3 et 4

E-mail : reimund@unistra.fr ou jean-marie.reimund@chru-strasbourg.fr

Résumé

Rationnel : L'étude in vitro des modes d'action et de résistance aux anticancéreux dans le CC, repose surtout sur la culture en 2D de lignées de CC humaines. Ce modèle est très éloigné des tumeurs humaines. Récemment, la culture en 3D (colonosphères) a été développée pour se rapprocher des caractéristiques des tumeurs humaines. Par ailleurs, des travaux récents suggèrent que la surexpression de la protéine d'efflux ABCG2 est associée à la résistance au FOLFOX, in vitro et in vivo.

Objectifs : (1) Comparer in vitro les effets du FOLFOX (1ère ligne de chimiothérapie adjuvante du CC) en 2D vs. 3D. (2) Etudier l'expression des ARNm d'ABCG2 sous l'effet du FOLFOX, dans des lignées de CC humains cultivées en 2D ou en 3D.

Matériels et Méthodes : La viabilité des lignées HCT-116 et HT-29, cultivées en 2D vs. 3D, avec ou sans FOLFOX (5-FU : 50 µM et oxaliplatine : 1,25 - 2,5 - 5 µM ; 50 µM/2,5 µM étant considérée comme la concentration dans le sang de malades traités par FOLFOX), a été étudiée par luminescence, de même que la capacité de formation des colonosphères (CFE). Puis, nous avons déterminé l'expression des ARNm d'ABCG2 dans des cellules HT-29 (plus résistantes que les HCT-116 ; cf. résultats) en culture 2D vs. 3D, avec ou sans FOLFOX (Q-PCR).

Résultats : En 2D, la viabilité des lignées HCT-116 et HT-29 était significativement diminuée par le FOLFOX. La lignée HCT-116 était plus sensible que HT-29 (viabilité : 20±2% versus 43±2% pour FOLFOX 50/2,5 ; p<0,05). En 3D, la viabilité des colonosphères HCT-116 diminuait significativement et de façon dose-dépendante mais moins qu'en 2D (e.g. pour FOLFOX 50/2,5 : 72±1% ; p<0,01). En revanche, la viabilité des colonosphères de cellules HT-29 n'était pas altérée, cette lignée cultivée en 3D étant donc totalement résistante au FOLFOX. La CFE était significativement diminuée pour les deux lignées. Enfin, alors que le FOLFOX augmentait très peu (x 2) l'expression d'ABCG2 dans la lignée HT-29 en 2D, ABCG2 était exprimé 6 fois plus dans des colonosphères HT-29 traitées par FOLFOX vs. celles non traitées (p<0,01).

Conclusions : Cultivées en 3D (vs. 2D), les lignées HCT-116, et surtout HT-29, sont significativement plus résistantes au FOLFOX suggérant que la culture en 3D est plus pertinente pour étudier la résistance aux anticancéreux dans le CC. Cette résistance est associée, dans la lignée HT-29 cultivée en 3D, à une surexpression des ARNm de la protéine ABCG2.

Remerciements : Ce projet a bénéficié du soutien financier de l'Association Alsace contre le Cancer et de l'Association Cœur-Cancer du Département de la Manche.

24

RAS/MAPK en réponse à la rapamycine dans des lignées de cancers du côlon

Auteurs : [Damien Reita](#), Dominique Guenot, Eric Guérin

EA 3430 Uds, Bâtiment INSERM U1113, 67200, Strasbourg

E-mail : damien.reita@gmail.com

Résumé

Contexte

La protéine kinase mTOR joue un rôle-clé dans la progression tumorale. La rapamycine (inhibiteur de mTOR) a une activité anti-tumorale transitoire sur des modèles de tumeurs coliques. L'objectif était de caractériser le rôle des voies PI3K/AKT et MAPK dans l'échappement à la rapamycine.

Matériels et méthodes

Quatre lignées cellulaires tumorales coliques (HCT116, SW480, Caco2 et HT29) au statut mutationnel KRAS et PIK3CA différent ont été cultivées en normoxie ou en hypoxie et traitées par rapamycine seule ou en association avec deux inhibiteurs pharmacologiques, le LY294002, ciblant PI3K, et le U0126 ciblant MEK. L'effet de la rapamycine sur la prolifération cellulaire a été évalué par un test au cristal violet. L'activation des voies PI3K/AKT et MAPK a été analysée via l'étude de l'expression protéique de pERK/ERK et pAKT/AKT par Western Blot. L'expression de gènes en aval de l'axe mTOR-HIF1a a été quantifiée par RT-qPCR.

Résultats

La lignée HCT116 mutée pour les gènes KRAS et PIK3CA, est résistante à la rapamycine. La lignée Caco2 non mutée pour ces deux gènes, est la plus sensible (60% d'inhibition après 72h en normoxie). L'hypoxie atténue l'effet anti-prolifératif de la rapamycine. L'analyse de l'expression protéique montre que la rapamycine induit une réactivation des voies PI3K/AKT et MAPK dépendant de la pression en oxygène et du statut mutationnel. Dans la lignée SW480 mutée pour le gène KRAS, l'activation de la voie MAPK précède celle de PI3K/AKT alors que dans la lignée Caco2, leur activation est synchrone. L'hypoxie majore les phénomènes de réactivation dans la lignée SW480. Suivant les lignées cellulaires, la rapamycine, en hypoxie, induit une augmentation de l'expression de gènes cible de l'axe mTOR-HIF1a : VEGFA, GLUT1, MMP9.

Conclusion

Ce travail apporte une base rationnelle au développement d'approches thérapeutiques combinées qui devront tenir compte des phénomènes de réactivation afin d'inhiber efficacement la voie mTOR dans les tumeurs coliques.

Première démonstration d'une corrélation intra-familiale et de facteurs génétiques pronostiques de la survie dans la NEM1, une étude du Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines.

Auteurs : Julien Thevenon¹, Abderrahmane Bourredjem^{2,3}, Laurence Faivre¹, Catherine Cardot-Bauters⁴, Alain Calenders⁵, Arnaud Murat⁶, Sophie Giraud⁵, Patricia Niccoli⁷, Marie-Françoise Odou⁸, Françoise Borson-Chazot⁹, Anne Barlier¹⁰, Catherine Lombard-Bohas¹¹, Eric Clouser¹², Antoine Tabarin¹³, Béatrice Parfait¹⁴, Olivier Chabre¹⁵, Emilie Castermans¹⁶, Albert Beckers¹⁷, Philippe Ruszniewski¹⁸, Morgane Le Bras¹⁹, Brigitte Delemer²¹, Philippe Bouchard²², Isabelle Guilhem²³, Vincent Rohmer²⁴, Bernard Goichot²⁵, Philippe Caron²⁶, Eric Baudin²⁷, Philippe Chanson²⁸, Lionel Groussin²⁰, Héléne Du Boullay²⁹, Georges Weryha³⁰, Pierre Lecomte³¹, Alfred Penfornis³², Héléne Bihan³³, Françoise Archangebeaud³⁴, Véronique Kerlan³⁵, Françoise Duron²², Jean-Marc Kuhn³⁶, Bruno Vergès³⁷, Michel Rodier³⁹, Michel Renard³⁰, Jean-Louis Sadoul⁴⁰, Christine Binquet^{2,3} and Pierre Goudet^{2,3,38,41}

¹ CHU de Dijon, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Université de Bourgogne, EA4271 GAD Dijon, France ² INSERM, CIEI, Dijon, France ³ CHU de Dijon, Clinical Investigation Centre - Clinical Epidemiology/Clinical Trials, Dijon, France ⁴ Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille, Service de Médecine Interne et Endocrinologie, Clinique Marc Linquette, Lille, France ⁵ Hospices Civils de Lyon, Génétique moléculaire et Clinique, Hôpital E. Herriot, Lyon, France ⁶ Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Clinique d'Endocrinologie, Nantes, France ⁷ APHM, Service d'Oncologie Médicale, Institut Paoli-Calmettes, Université Aix-Marseille, Marseille, France ⁸ CHRU de Lille, Service d'Endocrinologie, Métabolisme-Nutrition, Oncologie, Pôle de Biologie Pathologie Génétique, Université de Lille2, Lille, France ⁹ Groupement hospitalier Est, Fédération d'Endocrinologie, Hospices Civils de Lyon et Université LYON1, Lyon, France ¹⁰ APHM, Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital la Conception, Aix-Marseille University, CRN2M UMR 7286-CNRS, Marseille, France ¹¹ Service d'Oncologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Lyon, France ¹² Laboratoire d'Oncogénétique, Faculté de Médecine Paris-Descartes-Paris-V, UMR-S970, APHP, Hôpital Cochin, Université Paris-Descartes, Paris, France ¹³ Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire et Université de Bordeaux 2, Hôpital du Haut Levêque, Pessac, France ¹⁴ Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, APHP, Hôpital Cochin, Paris, France ¹⁵ Service d'Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, Hôpital Michalon, Grenoble, France ¹⁶ Laboratoire de génétique moléculaire, Domaine Universitaire du Sart-Tilman 17 Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire de Liège, Université de Liège, Liège, Belgique ¹⁷ Service de Gastroentérologie-pancréatologie, APHP, Hôpital Beaujon et Université, Paris 7 Denis Diderot, Clichy, France ¹⁸ Department of Endocrinology, Sorbonne Paris Cité, APHP, Hôpital Cochin, University Paris-Diderot, Paris, France ¹⁹ Department of Endocrinology, Faculté de médecine, Sorbonne Paris Cité, APHP, Hôpital Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France ²⁰ Department of Endocrinology, University Hospital of Reims, Reims, France ²¹ Service d'Endocrinologie, APHP, Groupement Hospitalier Universitaire Est, Hôpital Saint Antoine, Paris, France ²² Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Diabète et Maladies métaboliques, Hôpital Sud, Rennes, France ²³ Department of Endocrinology, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France ²⁴ Service de Médecine interne endocrinologie et nutrition, Hôpital de Haute-pierre, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ²⁵ Service d'Endocrinologie, CHU de Toulouse, Pôle Cardio-Vasculaire et Métabolique, Maladies Métaboliques, Nutrition, Hôpital Larrey, Toulouse, France ²⁶ Institute Gustave Roussy, Department of Nuclear Medicine and Endocrine Oncology, University of Paris-Sud, Villejuif, France ²⁷ Faculté de Médecine Paris-Sud, UMR5693, APHP, Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Hôpital Bicêtre, University Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre F-94276, France ²⁸ Service d'endocrinologie, Centre Hospitalier Régional de Chambéry, Chambéry, France ²⁹ Department of Endocrinology, University

Hospital of Nancy, Vandœuvre-Lès-Nancy, France ³⁰ Unit of Endocrinology, Centre Hospitalier Régional Universitaire Tours, Tours, France ³¹ Département d'endocrinologie, métabolisme et diabétologie-nutrition, Hôpital Jean Minjoz, University of Franche-Comté, EA3920 U Besançon, France ³² Service d'Endocrinologie, pôle des spécialités médicales, APHP, Centre Hospitalo-Universitaire Avicenne, Bobigny, France ³³ Department of Internal Medicine and Endocrinology, Hôpital du Cluzeau, Limoges, France ³⁴ Department of Endocrinology, CHU Brest, Hôpital de la Cavale Blanche, Université de Bretagne Occidentale, Diabète and Metabolic Diseases, Brest, France ³⁵ Department of Endocrinology, University Hospital of Rouen, Rouen, France ³⁶ Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Hôpital du Bocage, Service d'Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques, Dijon, France ³⁷ Service de Chirurgie Endocrinienne, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Hôpital du Bocage, Dijon, France ³⁸ Service des maladies, Métaboliques et endocriniennes, CHRU Nîmes, Hôpital Caremeau, Nîmes, France ³⁹ Department of Endocrinology, Hôpital de l'Archet, Nice, France ⁴⁰ Centre d'Epidémiologie des Populations, Faculté de médecine de Dijon, Université de Bourgogne, Dijon EA 4184, France

E-mail : julien.thevenon@chu-dijon.fr

Résumé

La Néoplasie endocrine multiple de type 1 (NEM 1), secondaire à des mutations du gène *MEN1*, est une maladie autosomique dominante rare qui prédispose les patients porteurs de la mutation à la survenue de tumeurs endocriniennes. Dans la littérature, les études de corrélation génotype-phénotype n'ont pas identifié de corrélation significative. Cependant, des patterns familiaux de risques tumoraux sont décrits, en particulier concernant la survenue de tumeurs thyroïdiennes.

Nous avons réalisé une étude de corrélation génotype-phénotype basée sur cohorte de patients NEM1 du Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines. Les patients avec un diagnostic moléculaire et un suivi clinique ont été inclus, totalisant 262 familles et 806 patients. Les critères génotypiques et phénotypiques utilisés dans les précédentes études ont été repris en ajoutant la considération des domaines d'interaction protéique. Les corrélations ont été testées en utilisant le modèle des risques proportionnels de fragilité de Cox pour ajuster l'hétérogénéité potentielle entre les familles. Après ajustement sur le sexe, et prenant en compte l'hétérogénéité entre les familles, le risque global de décès était significativement plus élevé lorsque des mutations affectaient le domaine d'interaction avec JunD (RR-ajusté=1,88 ; IC-95% 1,15-3,75). Les patients avaient un risque plus élevé de décès par cancers du spectre NEM1 (RR-ajusté=2,34 ; IC-95% 1,23- 4,43).

Nous démontrons l'existence du premier facteur de pronostic moléculaire dans la NEM1. Ces résultats suggèrent l'existence de facteurs modificateurs génétiques de l'expressivité de la NEM1.

Résumés des posters

26

Dosimetric results of three treatment plans for radiation of intracranial germinomas.

Auteurs : Vigneron C (1), Coca H.A (2) , Jarnet D (1), Niederst C (1), Meyer P (1), Kehrl P (2), Entz-Werlé N (3), Noël G (1).

1- Department of Radiation Oncology, Paul Strauss Cancer Center, Strasbourg, France.

2- Neurosurgery department, Haute-pierre university hospital, rue Molière, Strasbourg, France

2- Oncopaediatric department, Haute-pierre university hospital, rue Molière, Strasbourg, France

E-mail : CVigneron@strasbourg.unicancer.fr

Résumé

PURPOSE: To compare the radiation dose distribution of three treatment plans in five child with intracranial germ cell tumors.

METHOD AND MATERIALS: Five child aged between 9 and 15 years old received adjuvant radiotherapy. A CT scanner for dosimetry was performed without contrast injection and matched and fused with initial pre-chemotherapy MRI. First part CTV included fusion of Whole-ventricle (WV) delineated on CT scan and MRI combined with initial tumor. The first part irradiation delivered 24 Gy in 15 fractions of 1.6 Gy. A complement of irradiation was delivered the initial tumors delineated in the first MRI. This second volume received 16 Gy in 10 fractions of 1.6 Gy. Organs at risk were also delineated on either MRI or dosimetric CT scan.

Dosimetric plans were three-dimensional conformal radiotherapy (3D-RT), intensity-modulated radiotherapy (IMRT), or WV with IMRT and boost by dynamic conformal arc therapy (DCAT).

RESULTS: Comparison of 3DRT and IMRT: for the whole brain, the average of the mean doses was decreased by 2.8 Gy with IMRT, for the temporal lobes by 7 Gy, for the brainstem by 4.3 Gy and for the cochlea by 15 Gy. The average conformity index (CI) was 1.7 with IMRT and 2.3 with 3D-RT. Homogeneity index (HI) were comparable.

Comparison of IMRT and DCAT: for the whole brain, the average of the mean doses was decreased by 0.3 Gy with IMRT, for the brainstem by 1,8 Gy and for the cochlea by 2.6 Gy. However, for the temporal lobes, the average of the mean doses was increased by 1.5 Gy with IMRT. The average CI was comparable.. HI was better with IMRT (0.05) compared to DCAT (0.08).

CONCLUSION: IMRT leads to the best dose distribution for these five cases of intracerebral germinomas and should be the treatment of choice.



27

THE P53-FAMILY IN CANCER-ASSOCIATED MUSCULAR ATROPHY

Auteurs : von Grabowiecki Yannick, Benosman S., Blanchard O., Palamici L., Mériaux S., Devignot V., Mellitzer G. and Gaididon C.

INSERM U692 ; LABORATOIRE DE SIGNALISATION MOLECULAIRE ET NEURODEGENERESCENCE

Faculté de Médecine, 11, rue Humann, 67200 Strasbourg

E-mail : vongrabowiecki@unistra.fr

Résumé

Cachexia is a severe comorbidity of cancer, with about 50% of patients suffering from it. It is actually responsible for the death of about 20-30% of cancer patients and is characterized by severe and irreversible loss of fat and muscular tissue, weakening patients and decreasing their resistance to chemo- or radiotherapy. Cancer cachexia is especially frequent in gastro-intestinal cancers. Animal models have shown that the mere presence of certain tumors is sufficient to induce a cachectic syndrome. Similarly, compounds used in chemotherapy can also induce muscular atrophy. The p53 family of transcription factors (p53, p63, p73) governs cell fate (proliferation, differentiation, cell death) by regulating the expression of "canonical" and isoform-specific genes. As the precise molecular mechanism leading to cachexia remains elusive, we investigated whether the p53 family could be involved in the process of muscle atrophy.

Using 4 different mouse models of muscular atrophy (doxorubicin, syngenic tumors of colon cancer cells, denervation and expression of mutated SOD1), we have shown that Tap63, alongside many target genes involved in cell death, is induced in atrophic muscles. The up-regulation of Tap63 and its transcriptional targets was confirmed by analyzing biopsies from patients with muscular atrophy. Immuno-histological analysis indicated that the p63 induction was located in the nuclei of muscle fibres. Using cultured myoblasts, we confirmed that the expression of p63 was induced by doxorubicin as well as the expression of mutated SOD1, indicating that p63 is part of a stress response pathway in muscle cells. Importantly, at a functional level, we demonstrated that overexpression of Tap63 induced muscle cell death, while a dominant inhibitory form (DNp63) protected against cytotoxic stresses. These results highlight the potential physiological relevance of p63 deregulation in muscle atrophy.

Finally, we also observed that the expression of p63 correlated with the expression of a muscle atrophy/remodelling effector called MuRF1. Interestingly, we found that overexpression of p63 rapidly activated the expression of MuRF1. Bioinformatics analysis highlighted potential p63 binding sites upstream of the MuRF1 gene, and ChIP analysis confirmed binding of p63 to the MuRF1 promoter, suggesting that Murf-1 could be a novel and muscle specific target of p63. Taken together, our findings suggest a new and crucial role for p63 in muscular atrophy via regulation of MuRF1, thus contributing to muscle catabolism. Further work is necessary to understand what leads to p63 induction and how this event could lead to transcriptional activation of MuRF1.

Infections virales et Cancer

28

INTERACTIONS BETWEEN VIRAL PROTEINS FROM HUMAN PAPILLOMAVIRUS AND THE UBIQUITIN-PROTEASOME SYSTEM

Auteurs : [Juline Poirson](#), Marie-Laure Straub, Patricia Cassonnet, Yves Jacob et Murielle Masson

Ecole Supérieure de Biotechnologies de Strasbourg, Parc d'Innovation, Bld Sébastien Brant, BP 10413, 67412 Illkirch Cedex

E-mail : jpoirson@unistra.fr

Résumé

The human papillomaviruses (HPVs) are the archetype of DNA oncogenic viruses. Nowadays more than 180 HPVs different genotypes are identified, only a few are closely associated with the development of cancer. It is mainly the high-risk mucosal HPVs (HPV16 and HPV18), which are involved in many cancers. These HPVs are implicated in 95% of cervical cancer, the second most prevalent cancer in women worldwide. Despite the recent elaboration of vaccination, HPV infection is still an important public health problem. Some high-risk cutaneous HPVs appear to be implicated in the development of some non-melanoma skin cancers. Moreover epidermodysplasia verruciformis patients are highly sensitive to HPV5 and 8 infections.

The oncogenic property of HPVs is mainly due to expression of two viral oncoproteins, E6 and E7. These one could hijack the ubiquitin-proteasome system, the major route of degradation of intracellular proteins in eukaryotes, to target tumor suppressor gene products for degradation.

Our study aim is to dissect the multiple interactions between HPV E6 and E7 and the ubiquitin-proteasome system effectors and identify novel functional mechanisms. This project consists of identifying novel ubiquitin-proteasome system effectors interacting with E6 and E7 from HPVs. It relies on a high throughput screening of a library of ubiquitin-proteasome system effectors with a novel protein-protein interaction assay, the PCA (Protein Complementation Assay). The first results show 3 new potential partners of HPV16 E6 with a very high PCA signal. We also observe that the binding of the cellular ubiquitin-ligase E6AP is not restrictive to high risk mucosal HPV E6 but seems to be genus-alpha-specific. This result will provide novel insights on the mechanism of the rewiring of the ubiquitin-proteasome system by the human Papillomaviruses.

Les « Omiques » fonctionnelles des cancers

29

Mode d'action de la cadhérine atypique Mucdhl, dans les cellules cancéreuses coliques

Auteurs : [BARANGER Mathilde](#), HINKEL I., MARTIN E., FREUND J.-N., GROSS I.

UMR_S 1113 INSERM Université de Strasbourg, 3 avenue Molière 67200 Strasbourg

E-mail : mathilde.baranger@etu.unistra.fr

Résumé

Contexte : Mucdhl a été récemment identifié au laboratoire en tant que cible directe de Cdx21, un suppresseur de tumeurs coliques, qui joue un rôle clé dans la détermination et le maintien de l'épithélium intestinal. Mucdhl code pour plusieurs isoformes (M et L) d'une cadhérine atypique dont l'expression est fréquemment diminuée dans les cancers coliques. De plus, l'expression ectopique de Mucdhl dans les cellules cancéreuses coliques diminue leur capacité à former des colonies in vitro et des tumeurs chez la souris nude. Ce travail vise à élucider le mode d'action de Mucdhl par l'identification et la caractérisation fonctionnelle de protéines interagissant avec ses différentes isoformes.

Méthode et résultats : Les interactions protéiques ont été analysées par co-immunoprécipitation et PLA in situ (proximal ligation assay). L'activité transcriptionnelle de la bêta-caténine a été mesurée par gène rapporteur (TOPFlash). Des protéines tronquées ont été générées via sous-clonage moléculaire. De nouveaux interactants de Mucdhl dans les cellules intestinales ont été identifiés en effectuant un crible double hybride chez la levure et une purification par double affinité (TAP-Tag).

L'une des isoformes (M) de Mucdhl interagit avec la bêta-caténine oncogénique et inhibe son activité transcriptionnelle. La cartographie fonctionnelle des régions impliquées suggère l'existence d'un mécanisme indirect d'inhibition, faisant intervenir un partenaire intermédiaire. De nouvelles interactions de Mucdhl M et/ou L avec des protéines associées à des processus importants pour l'homéostasie cellulaire ont été mises en évidence.

Discussion : Les résultats obtenus posent les bases d'une meilleure compréhension de la fonction et des conséquences pour la cancérogenèse colique de la perte d'expression de Mucdhl, une cadhérine atypique encore peu étudiée, mais interagissant avec des acteurs clés de la physiopathologie intestinale.

1 Hinkel et al., Gastroenterology. 2012 Apr;142(4):875-885.e3.

Résumés des posters

30

Intérêt de la détection par PCR en temps réel de la mutation p.V600E du gène *BRAF* à visée diagnostique dans les cytoponctions thyroïdiennes

Auteurs : Olivia BEAUDOUX¹, Eva BRABENCOVA¹, Christian GARBAR¹, Audrey DALAC², Sandrine FIEFFE², Jean-Marie POCHART², Claire SCHVARTZ² et Chantal DELVINCOURT¹

¹ Département de Bio-Pathologie, Institut Jean-Godinot (IJG), Reims

² Unité Thyroïde, IJG

E-mail : olivia.beaudoux@reims.unicancer.fr

Résumé

Dans les cancers papillaires de la thyroïde (CPT), la littérature rapporte une prévalence variable de 15 à 91 % de la mutation V600E du gène *BRAF* et une spécificité proche de 100 %. L'objectif était d'évaluer la prévalence et la spécificité de cette mutation à visée diagnostique pré-opératoire dans les nodules thyroïdiens à l'aide d'une technique sensible de PCR en temps réel.

Trente et un échantillons prélevés par cytoponction en 2012 et 2013 ont été analysés. Le diagnostic cytologique a été réalisé selon la classification de Bethesda. L'ADN a été extrait à l'aide de réactifs Qiagen Mini Kit. Le génotypage a été effectué par discrimination allélique à l'aide d'une PCR en temps réel avec hydrolyse de sondes TaqMan à façon (Life Technology) avec une limite de détection évaluée à 5 % d'allèle muté.

La prévalence globale de la mutation V600E était de 19 %. Elle était de 50 % pour les échantillons classés Bethesda 6, 20 % pour les Bethesda 5, et 12,5 % pour les Bethesda 3. Aucune mutation n'était retrouvée parmi les Bethesda 4 et 2.

33 % des échantillons mutés V600E étaient Bethesda 3 ou 5.

100 % des échantillons mutés V600E ont eu une confirmation histologique de cancer papillaire quelle que soit la cytologie.

A l'aide de cette technique sensible de discrimination allélique, la recherche de la mutation V600E du gène *BRAF* confirme son intérêt diagnostique, notamment en pré-opératoire des nodules thyroïdiens à cytologie indéterminée ou suspecte (Bethesda 3 et 5) en raison d'une valeur prédictive positive de 100 % pour le diagnostic de cancer papillaire de la thyroïde.

31

Anchorage of $\Delta 2$ -Troglitazone on the dendrimer PAMAM demonstrates that early events in breast cancer cells occur independently of a nuclear action

Auteurs : Audrey Berthe, A. Bordessa, M. Boisbrun, S. Flament, S. Mazerbourg

UHP, UPRES EA 3442 Aspects Cellulaires et Moléculaires de la Reproduction et du Développement, Faculté des Sciences, Vandoeuvre les Nancy Cedex

E-mail : audreyberthe.mail@gmail.com

Résumé

Background: Resistance to therapies and the absence of targeted therapy for triple negative mammary tumors are strong arguments for the search for new therapeutic agents. Thiazolidinediones, synthetic PPAR γ ligands, display antiproliferative effects *in vitro* and *in vivo*. Several studies suggest

that it could be the result of PPAR γ -independent mechanisms. We are working on the mechanism of action of $\Delta 2$ -Troglitazone ($\Delta 2T$), a derivative that does not activate the nuclear receptor PPAR γ but still inhibits the proliferation of breast cancer cells. Our objective was to confirm the PPAR γ -independent effect of $\Delta 2T$ and to determine if $\Delta 2T$ action was associated with other nuclear targets. Thus, we studied the effects of $\Delta 2T$ anchored on the dendrimer PAMAM (polyamidoamine) that inhibits the entry into the nucleus.

Methods: Rhodamine- $\Delta 2T$ (3 μM) and rhodamine-PAMAM- $\Delta 2T$ (43 nM) localisation in MCF7 cells was analysed by fluorescence microscopy. MCF7 cells were exposed to $\Delta 2T$ (25 μM), PAMAM- $\Delta 2T$ (50 and 25 μM $\Delta 2T$ equivalent meaning 4 and 2 μM of compound) and PAMAM (4 and 2 μM). Gene expression was analysed by RT-PCR. Proteins were analyzed by immunoblotting.

Results: In contrast to Rhodamine- $\Delta 2T$, rhodamine-PAMAM- $\Delta 2T$ is localized exclusively in the cytoplasm. PAMAM- $\Delta 2T$ induces the early effects of $\Delta 2T$: ERK1/2 phosphorylation, increase in *EGR1* and *NR4A1* (*Nur77*) mRNA level. However, we do not observe the cleavage of *XBPI* mRNA, related to the endoplasmic reticulum (ER) stress. PAMAM- $\Delta 2T$ and $\Delta 2T$ also induce the phosphorylation of the kinase AMPK (AMP dependent protein kinase) that could be involved in the response to energy restriction.

Conclusion: This work allows us to demonstrate that most of the early events triggered by $\Delta 2T$ are independent of an action on the nucleus. We have now to determine if later events such as the decrease of cell viability, the expression of ER stress (BIP, CHOP) and apoptotic (PARP and caspase 7) markers also the result of a non-nuclear action of $\Delta 2T$.

32

Sensibilisation de lignées tumorales des Voies Aériennes Digestives Supérieures (VADS) à la radiothérapie par ciblage chimiothérapeutique de l'axe EGFR/mTOR/HIF-1.

Auteurs : BLANCHARD Orphée*, Yannick von Grabowiecki, Jean-Noël Freund, Georg Mellitzer, Christian Gaiddon

*INSERM U692 ; LABORATOIRE DE SIGNALISATION MOLECULAIRE ET NEURODEGENERESCE

Faculté de Médecine, 11, rue Humann, 67200 Strasbourg

E-mail : orphee.blanchard@laposte.net

Résumé

La famille p53 est constituée de 3 facteurs de transcription p53, p63, p73 régulant le cycle cellulaire, l'apoptose, et la différenciation. Plusieurs études ont montré l'implication de cette famille dans le système digestif. En effet, dans les cancers du tractus digestif, p53 est fréquemment muté. De plus, dans les cancers du côlon, l'isoforme pro-apoptotique TAp73 est recruté dans la réponse aux dommages à l'ADN et aux traitements anti-tumoraux. Parallèlement, les cellules cancéreuses du colon et de l'estomac expriment fortement l'isoforme anti-apoptotique DNP73, qui est étroitement lié au pronostic du patient.

Alors que la régulation de p53 est connue, celle de p73 reste à comprendre. Notre équipe a déjà montré que les kinases cyclines dépendantes et p53 muté régulaient p73. Dans le but d'identifier d'autres régulations, une analyse bioinformatique indique une

Résumés des posters

possible phosphorylation de p73 par les kinases calmoduline dépendantes (CamK), protéines régulant également l'apoptose. Notre objectif est de caractériser et évaluer la régulation de p73 par les CamK, des kinases de thréonine/sérine. Nos résultats préliminaires indiquent que les isoformes p73 sont régulées par les kinases calmoduline dépendantes de manière précise et coordonnée. D'ailleurs, p73 et CamK sont impliqués tous les deux dans le cycle cellulaire, la transformation cellulaire et les résistances aux anti-tumoraux. CamKII semble favoriser le mécanisme apoptotique en augmentant l'expression et l'activité de l'isoforme TAp73 et en diminuant l'isoforme cytoprotecteur Dnp73. Par contre, CamKIV serait un protecteur cellulaire, en favorisant l'activité de Dnp73 et en réprimant celle de l'isoforme TAp73. Ce mécanisme de régulation précis pourrait être dérégulé dans les cancers du système digestif, où l'expression des isoformes de p73 est fortement perturbée. Ceci pourrait nous permettre de mieux appréhender les stratégies thérapeutiques face aux cancers du côlon et de l'estomac.

33

Role of $\alpha 5 \beta 1$ integrin in EGFR oncogenic activity in glioblastoma

Auteurs : Blandin A.F, Ray A.M., Janouskova H, Martin S, Choulier L., Chaffner F, Lelong Rebel I, Döntenwill M , Lehmann M

Equipe Signalisation Cellulaire, UMR7213 LBP, Faculté de Pharmacie, Illkirch

E-mail : anne-florence.blandin@etu.unistra.fr

Résumé

Introduction:

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common primary brain tumor. Amplification and mutation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) is detected in about 50% of patients with GBM. Despite the well-recognized oncogenic activity of EGFR, clinical trials using anti-EGFR therapies for the treatment of GBM reveals limited efficacy. Our team previously showed that overexpression of the fibronectin receptor, $\alpha 5 \beta 1$ integrin, is associated with a poor prognosis for patients and that the integrin triggers resistance to temozolomide. It is well established that integrins can cross-talk with tyrosine kinase growth factor receptor to promote cell growth survival and migration. The aim of my thesis is to identify a functional interaction between EGFR and $\alpha 5 \beta 1$ integrin in GBM and to determine its involvement in resistance to anti-EGFR therapy.

Results:

We genetically modified U87 ATCC GBM lines to modulate $\alpha 5$ integrin. Using $\alpha 5$ high expressing cells, we found that used alone, an anti-EGFR antibody (Cetuximab - CTX) or a specific non-peptidic antagonist of $\alpha 5 \beta 1$ integrin (K34c) poorly inhibited U87 cell migration on Boyden chamber (chemotaxis induced by serum). By contrast, combination of the two drugs was highly efficient to block cell migration. Cell signaling analysis by western blotting revealed that activation of $\alpha 5 \beta 1$ potentiates EGFR activation of two essential pathway PI3K/Akt and MAPK/Erk1,2. More importantly, engagement of $\alpha 5 \beta 1$ attenuated inhibitory activity of CTX on ERK pathway. Together, these data confirm that $\alpha 5 \beta 1$ can trigger resistance to cetuximab therapy. We will address the putative formation of a physical complex EGFR/ $\alpha 5 \beta 1$ integrin

by FRET-FLIM microscopy on cell expressing genetically encoded fluorescent proteins. We will thus test the impact of EGFR and integrin antagonists on EGFR/ $\alpha 5 \beta 1$ complex formation in GBM and determine in the future if the complex is expressed in vivo.

Conclusion:

Ours results revealed a role for $\alpha 5 \beta 1$ integrin in EGFR signaling and resistance to CTX treatment in GBM expressing high level of the fibronectin receptor. Further experiments will show if antagonists targeting $\alpha 5 \beta 1$ can sensitize GBM to CTX therapy and impair glioma cell invasion, growth and survival.

34

Régulation de la migration et de l'invasion des cellules issues de fibrosarcome humain HT-1080 stimulées par les peptides dérivés de l'élastine via un mécanisme dépendant de la protéine Hsp90

Auteurs : Bertrand BRASSART, Mélissa Donet, Sylvie Brassart-Pasco, Stéphanie Salesses, François-Xavier Maquart

Laboratoire de Biochimie Médicale et de Biologie Moléculaire, CNRS FRE 3481, Université de Reims-Champagne-Ardenne, 51095 Reims, France;

CHU de Reims, 51095 Reims, France

E-mail : bertrand.brassart@univ-reims.fr

Résumé

Les peptides dérivés de l'élastine (PDE) exercent une activité pro-tumorale en potentialisant la sécrétion des métalloprotéinases matricielles (MMP) et le système d'activation du plasminogène-plasmine, l'u-rokinase (u-PA). Nous avons montré que la kappa-élastine et le peptide VGVAPG stimulent, de façon temps et concentration dépendante, l'expression de la protéine de stress Hsp90, la pro-MMP-2 et l'u-PA. D'autres peptides d'élastine (AGVPLGVG et GRKRK) n'ont aucun effet. La sécrétion accrue de Hsp90 a eu lieu après 15 min d'incubation et persiste pendant 24 h. Aucune augmentation du taux d'ARNm a été observée suggérant un mécanisme post-transcriptionnel. Les tests de blessure artificielle in vitro et l'utilisation de chambres de Boyden modifiées révèlent que les inhibiteurs spécifiques d'Hsp90, la gédanamicine et le radicicol, inhibent le pouvoir invasif des cellules tumorales HT-1080 stimulées par les PDE. Ces deux inhibiteurs inhibent également la sécrétion de la pro-MMP-2 et de l'u-PA induite par les PDE. L'effet inhibiteur a été reproduit à l'aide d'anticorps bloquant anti-Hsp90 ou l'utilisation d'ARN interférents spécifiques d'Hsp90. Enfin, Hsp90 interagit avec l'u-PA et la pro-MMP-2 sécrétées dans les milieux conditionnés des cellules HT-1080. Ces interactions Hsp90/protéinases permettent l'activation de la pro-MMP-2 en MMP-2 et ils augmentent la stabilité de la pro-MMP-2 dans les milieux de culture. Nos résultats démontrent que les PDE exercent des activités pro-tumorales grâce à un mécanisme dépendant de Hsp90 et impliquant la pro-MMP-2 et l'u-PA.

Résumés des posters

35

LUMICAN ANTI-MIGRATORY EFFECT ON MELANOMA CELL: NOVEL MEDIATORS IDENTIFIED.

Auteurs : K. Pietraszek ¹, S. Brézillon ¹, C. Perreau ¹, F-X. Maquart ^{1,2} and Y. Wegrowski ¹

¹ Laboratoire de Biochimie Médicale et de Biologie Moléculaire, CNRS FRE 3481, Université de Reims-Champagne-Ardenne, 51095 Reims, France;

² CHU de Reims, 51095 Reims, France

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

Résumé

Lumican is a member of the small leucine-rich proteoglycan family and is secreted to extracellular matrix. In skin, lumican is a glycoprotein of 57 kDa. Apart from its structural function in the control of collagen fibril assembly, lumican also presents potent anti-tumour properties. Previous works from our group showed that lumican core protein was able to inhibit melanoma cell migration *in vitro*. Moreover, lumican was shown to inhibit primary tumour progression and lung metastasis *in vivo*. Integrin $\alpha 2\beta 1$ was characterized as a direct lumican receptor on melanoma cells. In parallel, an inhibition of the phosphorylation of focal adhesion kinase (FAK) was observed. In this study, we examined the effect of recombinant glycosylated 57 kDa lumican on melanoma growth and migration *in vitro* and partially characterized its mechanism of action. The presence of glycosylated lumican in culture media significantly decreased the growth of the different melanoma cell lines tested (A375, B16F1, HT144 and SK-MEL28). The time necessary for melanoma cell spreading was significantly shorter in presence of lumican in comparison to control. Moreover, addition of recombinant lumican inhibited the migration of these cells. Among the four melanoma cell lines tested, only one (A375 cells) expressed the $\alpha 2\beta 1$ integrin, the earlier characterized lumican receptor. This result suggests that there are other receptors involved in lumican effect on melanoma cells. Results from phospho- receptor tyrosine kinase array showed that lumican decreases the phosphorylation of several receptors, mainly EGFR, MER, EphB2, EphB6, ROR and Tie in B16F1 cells. To characterize the mechanisms involved in the inhibition of cell migration by glycosylated lumican, the status of the phosphorylation/dephosphorylation of proteins in B16F1 cells was examined. An inhibition of the phosphorylation of AKT, b-catenin, p130CAS was found. Altogether, our results put a new light on mediators and mechanisms involved in anti-tumour effect of lumican.

36

Phosphoproteome analysis in human breast cancer cells

Auteur : Marilyn Carrier

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

E-mail : carrier@igbmc.fr

Résumé

Breast cancer is an heterogeneous disease with 30 % of the breast tumors characterized by the overexpression of the receptor tyrosine kinase ErbB-2. Most of these erbB-2 tumors depict aberrant kinase signaling activities and are resistant to the antiproliferative activity of retinoic acid (RA). Here we addressed whether the overexpression of erbB-2 affects the phosphorylation state of the RA signaling actors. Therefore the phosphoproteome of nuclear extracts from two different human breast cancer cell lines (the erbB-2 negative MCF7 breast cancer cell line and the erbB-2 positive BT474 cell line) was studied by high resolution nano LC/Orbitrap Mass Spectrometry after IMAC enrichment of the phosphopeptides. The results revealed that in both cell lines, around 30% of the nuclear proteins are phosphorylated and these concern essentially components of the signaling pathways and transcription regulators. Among these phosphorylated proteins, 80% are not affected upon RA addition, while the other 20% are specific of the control or RA-treated state. Remarkably, the BT474 cells were found to depict 20% more phosphorylated proteins than the MCF7 cells, with 70 % being common to both cell lines.

Finally, highthroughput RNA sequencing (RNA-seq) experiments were performed in order to attempt a correlation between the phosphoproteome and the RA-sensitivity/resistance of the two breast cancer cells.

37

From here to ERalpha36, a new predictive marker for breast tumor therapeutic response?

Auteurs : Clémence Chamard, Taha Boukhobza, Alain Jung*, Amand Chesnel, Christine Macabre*, Stéphane Flament, Sonia Ledrappier*, Joseph Abecassis* and Helene Dumond**.

*Centre Paul Strauss, Laboratoire de Biologie Tumoriale, 3 rue de la Porte de l'Hôpital, BP 42, 67065 Strasbourg cedex

**Université Henri Poincaré, EA 4421 SIGRETO, Bd des Aiguillettes, BP 239, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex

E-mail : clemence.chamard@laposte.net

Résumé

Breast cancer is the main cause of cancer-induced morbidity and mortality in women. Breast tumors are usually classified according to their nuclear estrogen receptor status. Such a classification led to the use of endocrine therapeutic agents against ER-positive tumors [ER+]. Nevertheless, numerous therapeutic failures are observed due to unclear resistance mechanism.

In this context, the objective of our study is to evaluate the efficiency to take into account the estrogen membrane receptors (ERalpha36 and GPER) in the diagnostic classification of breast tumors and thus to construct a gene network useful for therapeutic predictions. More precisely, we are interested in improving the classification of so-called "ER-positive" breast tumors by taking into account the key role of ERalpha36 and GPER in the control of

Résumés des posters

breast tumors non genomic estrogen response and metastatic potential. The aim is to better define the field of acceptance of [ER+] versus [ER-] classification and to help the clinicians choosing the best therapeutic strategy for each patient. To do so, we set up a retrospective study, performed on hundreds of breast tumor samples: ERalpha36, GPER and metastatic marker expressions were measured by real-time PCR in almost 100 [ER+] as well as 60 triple-negative [ER-] tumor samples. Then, we performed statistical analyses between gene expression levels and clinical parameters (grade, survival, treatment). The proposed approach for the analysis consists in performing the classification pertinence of a gene in three steps: after choosing a target gene and a classification threshold to separate the sample into two categories, we identify, using a Bayesian inference technique, two networks which are involved in the metastatic markers. Then, we compute the distance between the two networks, which is defined to take into account both the structural differences between the networks (existence or not of relations between the markers) and the compartmental differences (behavioral differences in the relations). The distances between the networks represent then the classification performance of the target gene and allow us to find the more pertinent classifiers.

Taken together, the results from this project should lead to (i) a better understanding of the breast tumor hormone sensitive status, (ii) a validation of new predictive markers of response in order to improve therapeutic orientation, (iii) the potential discovery of new therapeutic targets in triple-negative tumors and (iv) the development of a new methodology to exhibit pertinent classifiers for transcriptome analysis based studies.

38

Caractérisation des Cellules Chimiorésistantes dans le Cancer Colorectal

Auteurs : Garnier Laure, Lagerqvist Louise

Institut de Génétique Fonctionnelle, 141 rue de la Cardonille, 34094 Montpellier cedex 5 voir inscription bourse

E-mail : laure.garnier@igf.cnrs.fr

Résumé

De nombreuses études, montrent qu'une population de cellules tumorales appelées cellules souches cancéreuses, (CSC) est à l'origine des récidives du cancer colorectal, à cause d'une plus grande résistance aux chimiothérapies. Dans notre étude, nous avons caractérisé in vitro, les cellules résistantes à la chimiothérapie.

Dans plusieurs lignées d'adénocarcinomes colorectaux, le traitement induit une forte mortalité, ainsi qu'une augmentation de l'expression des gènes de pluripotence dans les cellules résistantes. Pour essayer de maintenir ce phénotype « souche », les cellules sont placées dans du milieu normalement utilisé pour la maintenance des cellules souches embryonnaires (ES). Dans ces conditions, deux populations cellulaires morphologiquement distinctes se forment dans une de nos lignées, des cellules en colonies similaires morphologiquement aux cellules ES, ainsi que des cellules isolées. Notre étude a montré que les cellules de la colonie expriment CD26, décrit dans la littérature comme un marqueur d'une population particulière de CSC, alors que les cellules isolées n'expriment pas CD26 et seraient des cellules progénitrices.

La portée éventuelle de ce travail est la caractérisation des différentes populations de cellules résistantes à la chimiothérapie afin de les cibler dans un futur plus lointain. Le marqueur CD26 semble être un bon marqueur pour discriminer les deux populations résistantes.

39

EFFECT OF ALCOHOL ON ESTROGEN SIGNALING PATHWAY IN HL-60 MYELOID LEUKEMIA CELL LINES

Auteurs : Isabelle Grillier-Vuissoz, Sandra Kuntz, Alexandra Kleinclaus, Stéphane Flament

Université Henri Poincaré et IUFM de Lorraine, EA 4421 SIGRETO, Bd des Aiguillettes, BP 239, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex

E-mail : isabelle.grillier-vuissoz@univ-lorraine.fr

Résumé

Epidemiological data suggest that ethanol is a major risk factor in various cancers. Our previous work on breast cancer cells showed an ethanol-induced stimulation of the estrogen signaling pathway. In order to see if similar mechanisms could occur in myeloid leukemia cells, we analyzed ER signaling pathways in HL-60 cell line under ethanol (0.3%) treatment. We observed a 2-fold increase of GPR30 mRNA levels and a 4-fold increase of ER β 36 after a 6h ethanol treatment. In the same conditions, the mRNA levels of the GPR30 target gene CTGF was also strongly stimulated (5.3-fold). Our results strongly suggest a stimulation of the non-genomic estrogen signaling pathway through GPR30/ER36? Moreover we describe for the first time the protein A2a Adenosine receptor in HL-60 cells, suggesting a possible involvement of this receptor in ethanol effect, as previously observed in breast cancer cells. The underlying molecular mechanisms remain to be elucidated.

40

Implication du facteur de transcription néphrogénique Lim-1, un nouvel oncogène, dans le cancer du rein humain avancé

Auteurs : Imène HAMAI (1); Sabrina DANILIN (1); Valérian DORMOY (4); Sylvie ROTHHUT (1); Catherine COQUARD (1); Mariette BARTHELMEBS (1); Véronique Lindner (2); Didier Jacqmin (3); Hervé Lang (3); Thierry MASSFELDER (1)

(1) INSERM 1113 équipe 3 : Signalisation et communication cellulaires dans le cancer du rein et de la prostate Université de Strasbourg Faculté de Médecine, Strasbourg, France

(2) Hôpital de Mulhouse, Département de Pathologie, Mulhouse, France

(3) Nouvel Hôpital Civil de Strasbourg, Département d'urologie, Strasbourg, France

(4) Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, Institut Suisse de Recherche Expérimentale sur le Cancer, Lausanne, Suisse

E-mail : hamaidi_imene@hotmail.fr

Résumé

Le carcinome à cellules rénales claires (CCC) demeure résistant aux thérapies antiangiogéniques. Nos résultats et d'autres montrent des similitudes mécanistiques entre tumorigenèse et néphrogenèse, impliquant notamment les voies Akt, NF- κ B, Notch et du sonic hedgehog-Gli. Parmi les cibles de Gli, nous avons récemment identifié le facteur de transcription développemental Lim1 comme un nouvel oncogène dans le CCC participant à la croissance tumorale. Nos études préliminaires révèlent que Lim1 aurait aussi un rôle dans l'invasion métastatique.

Résumés des posters

Aucun inhibiteur chimique de Lim1 n'étant disponible, nous utilisons des si/shRNA pour établir son potentiel invasif par l'analyse de ses effets sur (i) les mouvements cellulaires, notamment la migration et l'invasion qui sont étudiées sur chambres de Boyden, (ii) l'expression des protéines d'invasion et sur l'activation/interaction avec d'autres voies oncogéniques par Western blot et protéome arrays et (iii) le développement quantitatif et qualitatif des métastases sur un modèle murin original. En effet, nous avons développé un modèle invasif in vivo de xénogreffe de CCC par injection orthotopique de lignées cellulaires chez la souris nude. L'originalité repose sur l'utilisation de lignées transfectées par 2 vecteurs, l'un codant pour la luciférase (suivi par imagerie) et l'autre pour un shRNA anti-Lim1 inducible à la doxycycline permettant d'éteindre l'expression de Lim1 à diverses étapes du processus tumoral. Nos résultats confirment l'implication de Lim1 dans les mouvements cellulaires par un mécanisme en cours d'investigation. Dans le modèle in vivo, les métastases sont visibles au niveau des sites secondaires privilégiés (poumons, cerveau et foie) à partir de la 4ème semaine après l'implantation des lignées. L'implication de Lim1 dans ce processus est en cours d'analyse. Cette étude devrait permettre de définir le rôle de Lim1 dans le CCC avancé et de définir un nouvel axe thérapeutique basé sur son inhibition.

41

PARG facilitates cellular recovery from prolonged replication stress

Auteurs : [Giuditta Illuzzi](#), Elise Fouquerel, Jean-Christophe Amé, Françoise Dantzer and Valérie Schreiber

ADP-ribosylation and Genome Integrity, UMR7242 Biotechnology and Cell Signalling, Laboratory of Excellence Medalis, CNRS, Université de Strasbourg, ESBS, Bd S. Brant, BP 10413, 67412 Illkirch, France

E-mail : giuditta@unistra.fr

Résumé

Poly(ADP-ribosylation) is a post-translational modification of proteins involved in a wide number of biological processes including DNA repair, transcription, mitotic segregation, telomere homeostasis and cell death. The poly(ADP-ribose) cellular level is regulated by the poly(ADP-ribose) polymerases (PARPs) and the degrading enzyme poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG), influencing the cell fate decision between life and death in response to DNA damage.

Using shRNA to prevent the expression of all PARG isoforms in a cellular model (shPARG), we have shown that the absence of PARG increased radiosensitivity and affected the repair of radioinduced single (SSB) and double (DSB) strand breaks (1). We have also demonstrated a functional link between PARG and the repair/replication factor PCNA (2): binding to PCNA contributes to PARG recruitment to laser induced DNA damage sites and to replication foci. The latter observation prompted us to investigate the contribution of PARG in DNA replication. shPARG cells showed increased sensitivity to hydroxyurea (HU), a drug triggering replicative stress, or replication fork collapse and DSB after long treatment. shPARG cells treated with long but not short HU treatment showed defect in S-phase restart, strong PAR synthesis, increased gH2AX but decreased RPA

hyper-phosphorylation, supporting a complex role for PARG and poly(ADP-ribose) in the processing of collapsed fork and associated DSB that is under investigation.

42

Monitoring Of The Influence Of LRP-1 Silencing On a Malignant Cell Line At The Mechanical Level Using Atomic Force Microscopy

Auteurs : [Anthony Le Cigne](#), Christophe Schneider, Sébastien Almagro, Stéphane Dedieu, Laurent Martiny, Michaël Molinari, Jérôme Devy

Université de Reims Champagne-Ardenne, Laboratoire SIRMA, CNRS UMR MEOYC 6237, Moulin de la Houssie, Rue des Crayères, B.P 1039, 51000 Reims

E-mail : anthony.le-cigne@univ-reims.fr

Résumé

The low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP-1) mediates the clearance of proteinases which degrade the extracellular matrix in cancer progression and has been considered a target against cancerous cell invasion. In addition, LRP-1 is known to regulate the cell-to-matrix adhesion-deadhesion balance. How this latter role could affect the anticancer potential of LRP-1 remains unclear. LRP-1 silencing has been shown to increase pericellular proteolytic activities, which are correlated with an increase in tumor cell invasion, but we recently provided evidence that cell invasion could be decreased by LRP-1 silencing. To clarify the role of LRP-1 in relation to cell invasion, we monitored the effects of LRP-1 silencing by a short hairpin-RNA strategy in a human thyroid carcinoma FTC-133 cell line seeded either on gelatin (gn) or fibronectin (fn), at the morphological, mechanical and cell behaviour level, using optical microscopy, atomic force microscopy (AFM) and live cell videomicroscopy. Profound morphological modifications have been observed optically and by AFM after silencing, including a promoted cell spreading on gn and fn. As analyzed by AFM, these modifications are correlated with a 4-fold increase in Young's modulus on gn and fn. These alterations are synonymous of lesser migration capabilities and tend to confirm the hypothesis that cell invasion could be decreased by LRP-1 silencing. We hence measured cell migration speed using videomicroscopy on both gn and fn, and found that cell velocity is decreased after LRP-1 silencing, in parallel to an alteration in migration patterns.

Preliminary experiments using confocal microscopy have evidenced strong differences in cell adhesion dynamics between control and LRP-1-silenced cells. To quantify more precisely the adhesion forces between unique cells and different matrix substrates, Single Cell Force Spectroscopy will be carried out after functionalization of AFM tips with control and LRP-1-silenced cells.

43

Laminin alpha1 orchestrates VEGFA and Dll4/Notch signaling in the tumor ecosystem to promote colon cancer

Auteurs : Lefebvre Olivier, E. Mammadova-Bach, I. Jivkov, M. Edwards, A. Klein, L. Pisarsky, A. Méchine-Neuville, G. Cremel, M. Kedingel, O. De Wever, N. Ambartsumian, S. Robine, E. Pencreach, D. Guenot, J. Goetz, P. Simon-Assmann, G. Orend.

Inserm U1109 ; Avenue Molière ; 67200 STRASBOURG

E-mail : olivier.lefebvre@inserm.fr

Résumé

We identify the laminin alpha1 chain (LMA1) as a novel actor of the cross talk between cancer and stromal cells. Its overexpression leads to increased colon tumor incidence, growth and angiogenesis. LMA1 attracts and triggers VEGFA secretion in fibroblasts, which in turn stimulates cancer cell growth and survival in a LMA1 dependent manner. LMA1 also stimulates Dll4/Notch signaling in endothelial cells together with better blood vessels coverage. Among all the LM chains analyzed, LMA1 is the most highly expressed in human colorectal tumors compared to normal colon, with no correlation with stage, suggestive an early role in tumorigenesis. Altogether we have identified LMA1 as a regulator of tumor growth and may represent a novel tool for early diagnosis of colon cancer.

44

THE HIGH THROUGHPUT CELL-BASED SCREENING FACILITY OF IGBMC, ILLKIRCH, FRANCE

Auteurs : Anne Maglott-Roth, Benoît Fischer, Amélie Weiss, Florence Gross and Laurent Brino

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

E-mail : maglottr@igbmc.fr

Résumé

Founded in 2005 by the Cancéropôle Grand Est (CGE) for consolidating the potential of the Alsatian research, this platform is located at the CEBGS building of IGBMC and provides high throughput solutions for research projects in biology. The main objective of the platform is to identify genes or small molecules with high therapeutic potential for a variety of cellular processes. We develop high throughput cell assays using siRNA or small molecules compound libraries combined with whole-well intensity readout or single cell high content phenotypic analysis to speed up the characterization of a particular cellular mechanism. The high content analysis are performed on automated fluorescence microscopes and high throughput image analysis softwares which allow multiparametric measurements (fluorescence intensity, morphology, objects counts, ...). For each condition, the percentage of cells showing the phenotype of interest is calculated using intra-plate positive and negative controls and hits are identified using statistical analysis tools.

The platform's core team consists of four engineers and one technician, with strong experience in RNA interference, gene expression, mammalian cell culture and cellular biology. High throughput cell transfection and phenotypic analysis are operated on a TECAN robotic station in Class II cabinet and on two automated high content imaging and analysis

systems, respectively. Because of its powerful potential in Drug Discovery and in the understanding of the biology of the cell functions, the development of this facility is well suited to give support to diverse research projects covering Development, Virology, Cancer or other Pathological issues. In 2012, the facility joined the RNAi Global Initiative consortium and acquired human and mouse genome siRNA libraries. It also joined the Ingestem national infrastructure to develop novel cell models using stem cell differentiation technology.

45

Towards the screening of glioblastoma stem cells drug sensitivity by mosaic analysis and droplet-based single cell encapsulation

Auteurs : L. Meyer, O. Lefebvre, Y. Beck, A. Marin, A. Wagner, A. Griffiths and D. Bagnard

Inserm U1109 ; Avenue Molière ; 67200 STRASBOURG

E-mail : lionel.meyer@unistra.fr

Résumé

One of the most striking discoveries in the field of brain cancer is the existence of stem cells subpopulations exhibiting strong capacities of proliferation and differentiation. In this context, glioblastoma stem cells (GSC) contribute to the progression and relapse of glioblastoma.

Here, we present the example of a GSC cell line derived from a patient biopsy. Cells are subjected to immunocytochemistry and RTqPCR to analyze the expression of potential therapeutic targets. We show that a large proportion of the cells are expressing the oligodendrocyte marker O4 (46% of total cells) compared to normal brain stem cells (19% of total cells, $p < 0.0001$) suggesting the existence of preferential differentiation pathway. Strikingly, we were able to reduce the proliferative and clonogenic capabilities of these cells as shown in a sphere formation assay when using a membrane targeting peptide inhibiting Plexin-A1 (MTP-PlexA1, -32%, $p < 0.001$). Because quantification of such cell behavior is difficult and time consuming we are developing a genetic tool allowing the production of fluorescent proteins under the control of cell type specific promoters: GFAP (astrocytes), MAP2 (neurons) and CNPase (oligodendrocytes). This inducible mosaic system will serve to monitor GSC differentiation in live conditions.

Moreover, in order to anticipate the need of novel generation drug screening taking into account the differentiation status of the cells, the existence of multiple cell populations in a tumor and the requirement of drug combination we are currently evaluating a single cell analysis strategy combining our mosaic tool with microfluidic PDMS device.

This setup is designed to allow single-cell encapsulation, differentiation and lysis to finally sort the droplets according to their fluorescence content depending on the cell type to ultimately perform single cell (or single population) drug screening eventually couple to proteomic analysis.

46

LUMICAN - DERIVED PEPTIDES INHIBIT MELANOMA CELL GROWTH AND MIGRATION

Auteurs : Katarzyna Pietraszek¹, S. Brézillon¹, C. Perreau¹, F.-X. Maquart^{1,2} and Y. Wegrowski¹

1 Laboratoire de Biochimie Médicale et de Biologie Moléculaire, CNRS FRE 3481, Université de Reims-Champagne-Ardenne, 51095 Reims, France

2 CHU de Reims, 51095 Reims, France

E-mail : katarzyna.pietraszek@etudiant.univ-reims.fr

Résumé

Lumican, a small leucine-rich proteoglycan of the extracellular matrix, presents potent anti-tumour properties. Previous works from our group showed that lumican was able to inhibit melanoma cell migration and tumor growth in vitro and in vivo. Melanoma cells are capable to adhere to lumican, resulting in a remodeling of their actin cytoskeleton and preventing their migration. In parallel, an inhibition of the phosphorylation of focal adhesion kinase (FAK) was observed. In addition, we identified a sequence of 17 amino acids (aa) within the lumican core protein, named lumcorin, which was able to inhibit cell chemotaxis and reproduce anti-migratory effect of lumican in vitro (Zeltz et al., 2009). The aim of the present study was to characterize the antitumor mechanism of action of lumcorin. Lumcorin significantly decreased the growth in soft agar of colonies of two melanoma cell lines - B16F1 cells (mice melanoma cell line) and SkMel-28 (human melanoma cell line) in comparison to control. Addition of 100µM lumcorin to serum free medium significantly inhibited B16F1 and SK-MEL28 cell migration. To characterize the mechanisms involved in the inhibition of cell migration by lumcorin, the status of the phosphorylation/dephosphorylation of proteins was examined. Lumcorin inhibited FAK phosphorylation in B16F1 cells. Since cancer cells have been shown to migrate and to invade by mechanisms that involve matrix metalloproteinases (MMPs), the expression and activity of MMPs in B16F1 cells were analyzed. The presence of lumcorin induced an accumulation of an intermediate form of MMP-14 (~59kDa), and inhibited MMP-14 activity. Altogether, these results suggest that lumcorin inhibits melanoma cell migration by involvement of two simultaneous mechanisms: inhibition of phosphorylation of specific proteins and decrease of MMP14 activity. Additionally, we identified a short, 10 amino acids peptide within lumcorin sequence which was able to reproduce its anti-tumor effect on melanoma cells. This peptide may have potential pharmacological applications.

47

Les 5-aminosalicylés (5-ASA) utilisés pour la chimioprévention du cancer colique (CC) compliquant les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), diminuent significativement la viabilité de lignées cellulaires de CC humains cultivées en 2D et en 3D, en activant la protocadhérine Mucdhl, mais sans utiliser la voie Cdx2 - Mucdhl.

Auteurs : LLechevrel M¹, Gross I², Quesnelle C¹, Duclos B³, Freund JN², Jean-Marie Reimund^{1,2,4*}

1 Université de Caen Basse - Normandie, UFR de Médecine, EA 4652 (Laboratoire « Microenvironnement Cellulaire et Pathologies »), SF ICORE 4206, CHU de Caen, 14032 Caen Cedex

2 Laboratoire « Voies de signalisation du développement et du stress cellulaire dans les cancers digestifs et urologiques », Unité

INSERM 1113, UFR de Médecine, Université de Strasbourg, 3 avenue Molière, 67200 Strasbourg

3 Service d'Hépatogastroentérologie et d'Assistance Nutritive, Pôle des Pathologies Digestives, Hépatiques et de la Transplantation, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, 1 Avenue Molière, 67098 Strasbourg Cedex

4 Service d'Hépatogastro-Entérologie et Nutrition, Pôle Médecine d'Organes et Cancérologie, CHU de Caen, CS 30001, 14033 Caen Cedex 9

*Adresses professionnelles actuelles : 2 et 3

E-mail : reimund@unistra.fr ou jean-marie.reimund@chru-strasbourg.fr

Résumé

Rationnel : Le gène homéotique Cdx2 est considéré comme régulateur essentiel de l'homéostasie intestinale et comme gène suppresseur de tumeurs dans le colon. Mucdhl, gène codant une protocadhérine, a été récemment identifié comme un des gènes cibles du facteur transcriptionnel CDX2 [1]. Par ailleurs, les 5-ASA actuellement utilisés comme médicaments chimiopréventifs des CC compliquant les MICI exercent leur rôle, au moins en partie, en activant Mucdhl [2].

Objectifs : Notre but était de déterminer in vitro si l'effet chimiopréventif des 5-ASA pouvait s'expliquer par l'activation de Cdx2 puis, sous son contrôle, de celle de Mucdhl, ou si une autre voie d'activation de Mucdhl était impliquée dans cet effet thérapeutique.

Matériels et Méthodes : L'expression de Cdx2 et de Mucdhl (Q-PCR, immunofluorescence) était étudiée dans des lignées cellulaires de CC humains (HT-29, HCT-116 et DLD-1) cultivées en 2D ou en 3D (colonosphères) en présence ou non de 20 ou 40 nM de mésalazine parallèlement à l'étude de la viabilité cellulaire à 48 heures, et en 3D à la capacité des lignées à former des colonosphères (CFE : Colonosphères Formation Efficiency). La nécessité d'activer ou non Cdx2 pour observer les effets antiprolifératifs de Mucdhl induits par les 5-ASA était étudiée en utilisant des siRNA dirigés contre Cdx2.

Résultats : (i) Les 5-ASA inhibent de façon dose-dépendante la viabilité de HT-29, HCT-116 et DLD-1 en 2D et en 3D (à 48 heures) et empêchent la CFE ; (ii) Les 5-ASA augmentent significativement l'expression des ARNm de Cdx2 et de Mucdhl ; (iii) Les 5-ASA ne modifient pas l'expression protéique de Cdx2 ; et (iv) l'inhibition de Cdx2 par des siRNA anti-Cdx2 inhibe efficacement l'expression des ARNm de Cdx2 (en présence ou en absence de 5-ASA), mais ne modifie pas significativement ni l'activation de l'expression des ARNm de Mucdhl par les 5-ASA, ni l'inhibition de la viabilité des lignées étudiées par les 5-ASA.

Conclusions : Ce travail confirme (i) que les 5-ASA diminuent significativement la viabilité de lignées cellulaires de CC humains cultivées en 2D et en 3D - condition qui favorise habituellement leur résistance aux molécules thérapeutiques -, et (ii) inhibent la formation des colonosphères. Par ailleurs, il montre que (iii) les 5-ASA activent l'expression des ARNm de Cdx2 mais pas celle de la protéine CDX2 (régulation post-transcriptionnelle ?), (iv) confirme qu'ils activent l'expression de Mucdhl, et enfin (v) montre que l'activation de Mucdhl par les 5-ASA ne dépend pas de Cdx2.

Remerciements : Ce projet a bénéficié du soutien financier de l'Association Française Aupetit.

Références : [1] Hinkel et al. Gastroenterology 2012;142:875-85. [2] Parenti et al. Aliment Pharmacol Ther 2010;31:108-19.

48

Tenascin-C regulates tumor angiogenesis through direct & indirect mechanisms

Auteurs : Tristan Rupp, Benoit Langlois, Elise Naudet, Thomas Husenet and Gertraud Orend

Inserm U682 ; Avenue Molière ; 67200 STRASBOURG

E-mail : t.rupp@unistra.fr

Résumé

Tenascin-C (TNC) is an extracellular matrix (ECM) glycoprotein which plays a key role in cancer microenvironment by promoting tumor progression and metastasis. Moreover its high expression is correlated with poor prognosis of cancer patients. In a recently published study we have shown that TNC regulates tumor angiogenesis in the spontaneous Rip1-Tag2 insulinoma mouse model overexpressing or lacking TNC (knockout). In this model TNC promoted the angiogenic switch and enhanced tumor vessel density, resulting in an aberrant vasculature with impaired functionality (Saupe et al., Cell Report, in press).

In order to understand the impact of TNC on angiogenesis, we developed an in vitro pseudo 3D model of cell derived matrices (CDM) produced by mouse embryonic fibroblasts expressing or lacking TNC. In this model, TNC-containing CDM reduced endothelial cell (EC) growth and increased apoptosis. Moreover, TNC impaired EC tube-like formation on matrigel which might result from TNC blocking adhesion and migration. Interestingly TNC-containing substrata reduced also pericyte adhesion and growth. Finally, in an ex vivo aortic ring sprouting assay, we observed a reduced endothelial sprouting in wildtype aortas as compared to explants from TNC knock-out mice. These results suggest that the interaction of EC or pericytes with TNC does not support angiogenesis. Conversely, media conditioned by tumor cells and cancer-associated fibroblasts cultivated on a TNC-rich substratum increased survival and proliferation of EC and stimulated tubulogenesis. We propose that TNC differentially regulates EC behavior through direct and indirect mechanisms. Direct anti-angiogenic and proangiogenic secretome modulation might coexist during tumor progression and potentially contribute to vascular abnormalities observed in cancer. Identification of TNC-dependent proangiogenic factors derived from tumor and stromal cells could open new targeted therapeutic options against TNC activities in cancer.

49

Microenvironnement et progression tumorale : Impact du vieillissement du collagène I sur la prolifération des cellules tumorales HT-1080

Auteurs : SABY Charles, EL BTAOURI Hassan, ROUTHIER Julie, CHARPENTIER Céline, VAN GULICK Laurence, JEANNESSON Pierre, MORJANI Hamid

Université de Reims - Champagne-Ardenne- unité median - CNRS umr 6142- Reims

E-mail : saby.charles@gmail.com

Résumé

De nombreux travaux montrent actuellement que le microenvironnement tumoral module la prolifération des cellules cancéreuses. Dans cette étude, nous analysons les effets du collagène I, composant matriciel à longue durée de vie (1/2 vie de 15 ans) sur la prolifération des cellules de fibrosarcome humain HT-1080.

Le collagène I a été préparé à partir de rats âgés de 8 semaines (adultes) et de 96 semaines (âgés), puis caractérisé par SDS-PAGE. L'accumulation des produits de glycation avancés (AGE, Advanced Glycation End Products), témoins du « vieillissement » de la molécule a été suivie par spectrofluorimétrie.

En culture cellulaire 3D, nous montrons que le collagène âgé induit une augmentation significative de la prolifération cellulaire, alors que le modèle conventionnel de culture 2D par coating, n'a aucune influence. Sur le plan moléculaire, cet effet en 3D contrairement au 2D, s'accompagne de l'activation de ERK1/2, voie de signalisation majeure impliquée dans la prolifération. Les voies Pi3Kinase/Akt et JNK ne montrent pas contre aucune activation. L'implication de ERK1/2 a été confirmée, en utilisant un inhibiteur pharmacologique spécifique (U0126). Comme ERK1/2 est connue pour activer le cycle cellulaire via l'inhibition de p21CIP1, inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines, nous avons étudié l'expression de p21CIP1 en présence de collagène I 3D. Nous montrons que le collagène âgé contrairement à l'adulte, diminue l'expression de cet inhibiteur de kinases. De plus, l'inhibition de la voie ERK1/2 par le U0126 restaure l'expression de p21CIP1.

L'ensemble de ces résultats suggère que le collagène I âgé stimule la prolifération des cellules HT-1080 via l'activation de la voie de signalisation ERK1/2 et des cyclines. Des études sont en cours afin de déterminer les candidats récepteurs mis en cause dans cette stimulation, à savoir DDR2 (Discoidin Domain Receptor 2), et/ou RAGE (Receptor for Advanced Glycation End Products).

50

Elastin peptides and tumoral angiogenesis: impact of Neu-1 inhibition.

Auteurs : Amandine Scandolera, Jérôme Devy, Annie Carlier, Julie Routhier, Laurent Martiny, Laurent Debelle and Laurent Duca

Laboratoire Signalisation et Récepteurs Matriciels (SIRMa), FRE CNRS / URCA 3481 "Matrice Extracellulaire et Dynamique Cellulaire (MEDyC)", Reims, France.

E-mail : amandine.scandolera@univ-reims.fr

Résumé

Melanoma is the most aggressive skin cancer, with no effective treatment currently available. During tumor progression, the extracellular matrix (EM) is degraded, and fragments including elastin-derived peptides (EDPs) are generated. EDPs are known for their in vitro pro-tumoral properties, and few in vivo data have been reported. Interestingly, a fragmentation of elastic fibers at the migration front is usually detected in melanoma patients. During tumor development, the angiogenic switch appears as a key step in tumor invasion and aggressiveness. Angiogenesis allows the elimination of metabolic wastes, a supply of growth factors, oxygen and nutrients, and invasion of others organs through metastasis.

In this work we show that EDPs treatment increase tumor growth through stimulation of proliferation, cell migration and invasion. These effects involve an upregulation of M-CoIA expression and activation. We therefore suppose that the elastin receptor complex could be a potential therapeutical target. Consequently, we have evaluated the role of a neuraminidase inhibitor (DANA) on tumor progression

Résumés des posters

and angiogenesis mediated by EDPs. Our results show that EDPs stimulate tumor development and angiogenesis in vitro, ex vivo and in vivo murine models. The inhibition of Neu-1 by DANA, leads to a decrease of tumor volume despite an expected increase of angiogenesis.

Overall, our results suggest that ERC targeting could be efficient to fight against melanoma progression.

51

Tenascin-C Downregulates Wnt Inhibitor Dickkopf-1 Promoting Tumorigenesis in a Neuroendocrine Tumor Model

Auteurs : Falk Saupe, Anja Schwenzer, Yundan Jia, Isabelle Gasser, Caroline Spenlé, Benoit Langlois, Martial Kammerer, Olivier Lefebvre, Ruslan Hlushchuk, Tristan Rupp, Marija Marko, Valentin Djonov, Agnès Neuville-Méchine, Irene Esposito, Olivier de Wever, Gerhard Christofori, Thomas Husseint and Gertraud Orend

Inserm U1109 ; Avenue Molière ; 67200 STRASBOURG

E-mail : heinke@unistra.fr

Résumé

The extracellular matrix molecule tenascin-C (TNC) is a major component of cancer-specific matrix, and high TNC expression is linked to poor prognosis in several cancers. To provide a comprehensive understanding of TNC's functions in cancer we established an immune-competent transgenic mouse model of pancreatic b-cell carcinogenesis with varying levels of TNC expression and compared stochastic neuroendocrine tumor formation in abundance or absence of TNC. We show that TNC promotes tumor cell survival, the angiogenic switch, more and leaky vessels, carcinoma progression and lung micrometastasis. TNC downregulates Dickkopf-1 (DKK1) promoter activity through blocking actin stress fiber formation activates Wnt signaling and induces Wnt target genes in tumor and endothelial cells. Our results implicate DKK1 downregulation as an important mechanism underlying TNC-enhanced tumor progression by providing a pro-angiogenic tumor microenvironment.

52

Regulation of microRNA and mRNA in gastric cancer in response to anticancer drugs

Auteurs : Marie-Elodie SPAETY, Mélanie Messmer, Benoit Romain, Serge Rohr, Georg Mellitzer, Sébastien Pfeffer, Christian Gaiddon

INSERM U692 ; LABORATOIRE DE SIGNALISATION MOLECULAIRE ET NEURODEGENERESCENCE; Faculté de Médecine, 11, rue Humann, 67200 Strasbourg

E-mail : marie-elodie.spaety@etu.unistra.fr

Résumé

Recent studies show the importance of microRNAs in the diagnosis and prognosis of cancer of the digestive tract, but their precise role in this context is still undefined. A number of miRNAs have been shown to function as transcriptional targets of p53 and they appear to aid p53 in promoting growth arrest and apoptosis. Therefore, we believe that to develop more effective therapies, it is important to understand precisely how existing chemotherapy, like cisplatin, affects cancer and healthy cells of the digestive system and what is the contribution of miRNA and the protein p53 family in this response. We generated and sequenced small RNA library to carry out comparative studies between untreated and

cisplatin treated gastric cancer cells (AGS cells). Validation of the results was performed by RT-qPCR. We observed an overexpression of miRNA as miR-200c and let-7e. To further identify signaling pathways that may be regulated differently in response to cisplatin, we analyzed data from microarray experiments based on cells treated or not with cisplatin. Several genes were selected for their potential role in cancer genesis or cancer cell death and were analyzed by RT-qPCR in two cell lines, a primary tumor cell lines (AGS cells) and a metastatic cell lines (KATO iii cells), the latter not expressing p53. In the presence of cisplatin, we observed differences in expression of PRDM1, EphA2 in the two cell lines, suggesting that their expression might be dependent upon the status of p53. Altogether this ongoing study led to the characterization of novel miRNA and mRNA regulated by cisplatin in gastric cancer cells, defining potentially novel signaling pathways involved in the response and the resistance of gastric cancer to cisplatin. Additional clinical and functional studies will allow us to further characterize the physiological relevance of these signaling pathways as markers or therapeutic targets for gastric cancers.

53

Development of a stochastic tumor model to address the roles of the extracellular matrix molecule tenascin-C in head and neck tumorigenesis

Auteurs : Caroline Spenlé, Olivier Lefebvre, Christiane Arnold, Annick Klein, Ellen van Obberghen-Schilling and Gertraud Orend

Inserm U1109 ; Avenue Molière ; 67200 STRASBOURG

E-mail : caroline.spenle@inserm.fr

Résumé

Context: Tobacco, alcohol consumption and human papillomavirus are the major risk factors for head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) development. The microenvironment plays a significant but poorly understood role in HNSCC. The extracellular matrix (ECM) molecules tenascin-C (TNC) and fibronectin (FN) are highly expressed in HNSCC often at the same site and presumably play an instrumental role in tumorigenesis as accomplices. In an INCA funded project, PAIR VADS - FITMANET, the tumor microenvironment and in particular expression and function of FN and TNC is determined in human cancer samples and in a murine HNSCC model. Methods: Oral squamous cell carcinoma (OSCC), a subtype of HNSCC, is induced by the carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO) administered in the drinking water. Similar to the human disease multiple lesions occurred that are characterized by tissue staining and qRT-PCR. The role of TNC in OSCC is addressed in TNC knockout (TNCKO) mice by determining size and abundance of dysplastic lesions, apoptosis proliferation and angiogenesis. To develop a syngeneic OSCC grafting model with defined contribution of TNC, we had established cell lines from OSCC tumors (wildtype (wt) and TNCKO). A transgenic mouse with an inducible expression of TNC has been generated and 5 founder lines are currently analyzed. Syngeneic tumor cells will be grafted into a host with no, wildtype and transgenic TNC. Results: Body weight loss of TNCKO tumor mice was 2-fold lower than that of control wt tumor mice. Whereas TNC is absent from the normal tongue, it is abundant in dysplasia and carcinoma in situ.

Both genotypes developed tumors with 4NQO, however tumor frequency was reduced in TNCKO mice. Whereas wildtype mice showed invasive carcinomas they were absent from the TNCKO mice. Discussion: The established spontaneous and grafting OSCC models will allow now to address the underlying mechanisms for increased tumorigenesis in dependence of tumor and/or host TNC.

54

DIAGNOSIS OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN CIRRHOTIC PATIENTS: A PROOF-OF-CONCEPT STUDY USING SERUM MICRO-RAMAN SPECTROSCOPY

Auteurs : I. Taleb¹, G. Thiéfin^{1,2}, C. Gobinet¹, V. Untereiner¹, A. Heurgué¹, B. Bernard-Chabert¹, C.

Truntzer³, P. Hillon⁴, M. Manfait¹, P. Ducoroy³, and G.D. Sockalingum¹, for the ProSpec Study Group.

1 Equipe MéDIAN, Université de Reims Champagne-Ardenne, MEDyC CNRS FRE3481, UFR Pharmacie, 51100 Reims. Email: ganesh.sockalingum@univ-reims.fr.

2 Hépatogastroentérologie, CHU Reims, 51100 Reims. 3CLIPP Platform, CHU Dijon, 21000 Dijon. 4Hépatogastroentérologie, CHU Dijon, 21000 Dijon.

E-mail : imanetaleb@gmail.com

Résumé

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the third most common cause of cancer death worldwide. The development of novel diagnostic methods is crucial to detect the tumor at an early stage when patients are eligible for curative treatments. The purpose of this proof-of-concept study was to determine whether micro-Raman spectroscopy applied to the serum of cirrhotic patients could be useful in distinguishing patients with and without HCC. Serum samples were collected from 2 groups of patients: cirrhotic patients with HCC (n=37) and without HCC (n=34). The micro-Raman spectra were acquired from dried serum drops and freeze dried serum in the point-mode with a LabRam microspectrometer (Horiba Scientific, France) equipped with 100x objective and a 785 nm laser. For each sample, 5 replicates were recorded at the centre and at the periphery, each during 40 s in the spectral range 600-1800cm⁻¹. Spectra were quality-tested and preprocessed (smoothing, baseline subtraction, vector normalization). Then, principal component analysis (PCA) was performed and the support vector machine (SVM) applied using the leave-one-out cross validation (LOOCV) procedure to classify the spectra into 2 classes of cirrhotic patients with and without HCC.

Using PCA, the principal component score plots did not show any clustering tendency and did not allow separating spectra from cirrhotic patients with and without HCC. In contrast, SVM method using the LOOCV procedure was able to correctly classify the 2 groups of patients with sensitivity between 81 and 92% and specificity between 82 and 92% for dried serum drop. Regarding freeze dried serum, this classification procedure gives sensitivity between 86% and 95% and specificity between 82% and 89%.

The promising results obtained in this pilot study support the working hypothesis that Raman microspectroscopy combined with advanced methods of pattern recognition has the potential for differentiating sera from cirrhotic patients with and without HCC. Funding from Institut National du Cancer, Fondation de France, Ligue contre le Cancer and Cancéropole Grand-Est is acknowledged. The IBiSA platform "Imagerie Cellulaire et Tissulaire" is acknowledged.

55

Novel potential therapeutic compounds targeting cancer stem cells isolated from glioblastoma

Auteurs : ZENIOU Maria, DONG Jihu, FEVE Marie, DUBOIS Gustavo, VILLA Pascal, JUNIER Marie-Pierre, CHNEIWEISS Hervé, HAIECH Jaques, KILHOFFER Marie-Claude

Université Louis Pasteur, ESBS, Parc d'Innovation, Bld Sébastien Brant, BP 10413, 67412 Illkirch Cedex

E-mail : zeniou@unistra.fr

Résumé

Background

Glioblastomas are extremely difficult to treat. This is attributed to their location and invasiveness together with the presence within the tumor mass of cells with stem cell properties. These cells reside in hypoxic and slightly acidic tumor niches which favor more aggressive undifferentiated phenotypes and a slow-growing quiescent state preserving them from current chemotherapeutic agents targeting essentially proliferating cells. Cells with such properties are known as cancer stem cells. It is currently accepted that more efficient therapeutic strategies should include compounds targeting these cells.

Methods

With the aim to disclose new molecules affecting glioblastoma stem cell (GSC) survival, we screened the Prestwick Chemical Library of FDA-approved drugs on in vitro proliferating and quiescent GSCs. In this assay, cell survival was evaluated by measuring ATP levels. Cell death mechanisms were further analysed by electron microscopy. The cytotoxic activity of bisacodyl, the major active compound, was also evaluated on GSC spheroids and in in vivo experimental settings.

Results

Among 24/1120 active compounds, only one molecule, bisacodyl, showed high specificity towards GSCs compared to human foetal neural stem cells and astrocytes. Bisacodyl is active on proliferating and more particularly quiescent GSCs under acidic conditions (pH ~6.5) found in tumor microenvironments with an IC50 value of 0.8 µM. We further show that bisacodyl induces necrotic cell death. Finally we report that this compound is able to dissociate GSC spheroids in vitro by inducing cell death and to affect the potential of GSCs to initiate tumors in in vivo ectopically xenografted nude mice.

Discussion

Due to its specific activity profile, bisacodyl appears as a particularly interesting potential cancer therapeutic compound. One might speculate that this molecule, in association with classical chemotherapeutic agents, may be effective to prevent tumor regrowth.

Immunité et Cancer

56

NK-EGFR01: Feasibility of allogenic natural killer cell (NK) adoptive transfer by intraarterial injection in combination to cetuximab: A phase I clinical trial in EGFR+ gastrointestinal adenocarcinoma

Auteurs : Adotevi O¹⁻⁵, Kim S⁵, Lakkis Z³, Fein F⁶, Jary M⁵, Dobi E⁵, Idirene I⁴, Certoux JM⁴, Godet Y¹⁻⁴, Delabrousse E⁷, Borg C¹⁻⁵.

1 Université de Franche-Comté, Unité Mixte de Recherche 1098, SFR IBCT, F-25020 Besançon Cedex, France

2 INSERM UMR1098, F-25020 Besançon Cedex, France

3 Clinical Investigation Center-Biotherapy 506, 3 bd Fleming, F-25030 Besançon Cedex, France

4 Etablissement Français du Sang de Bourgogne Franche-Comté, UMR1098, F-25020 Besançon Cedex, France

5 Department of Medical Oncology, University Hospital Jean Minjoz, 3 bd Fleming, F-25030 Besançon Cedex, France

6 Department of Gastroenterology, University Hospital Jean Minjoz, 3 bd Fleming, F-25030 Besançon Cedex, France

7 Department of radiology, University Hospital Jean Minjoz, 3 bd Fleming, F-25030 Besançon Cedex, France

E-mail : olivier.adotevi@univ-fcomte.fr

Résumé

Background NK cells are components of innate immunity recognizing and killing tumor or virus-infected cells. Major advances in NK cell alloreactivity biology resulted in the successful introduction of NK-based cellular therapy in the treatment of myeloid leukemia (Velardi A, et al. Science 2001 and Miller J, et al. Blood 2005). Our pre-clinical experiments confirmed the ability of activated alloreactive NK cells to recognize the chemoresistant colorectal cancer cell line HT29. The use of cetuximab improved NK cell cytotoxicity in this setting and prompted us to combine NK cell alloreactivity and Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity (ADCC).

Materials and Method Patients with liver metastases of colorectal or pancreatic cancers were included. Main inclusion criteria were: a positive expression of EGFR on tumor cells by immunohistochemistry, the absence of a specific Killer cell Immunoglobulin-like Receptors (KIR) ligand, a performance status of 0 or 1, an age below 75 years, the absence of an important extrahepatic disease, and absence of standard therapeutic options. Patients were treated with a lymphodepleting chemotherapy (d-6 to J-2: fludarabine 25mg/m² and d-6 cyclophosphamide 60mg/Kg) before adoptive transfer of NK by the liver artery (day 0). Cetuximab was administered at d-1 and every week for 7 weeks. Three dose levels were performed (3.10⁶ NK/Kg, 6.10⁶ NK/Kg, 12.10⁶ NK/Kg). Injection of interleukin 2 were performed after the adoptive transfer, every 3 days for 6 injections.

Results Three patients were included at each dose level. The production of allogenic NK was possible for all patients. NK cells were cultured overnight in Xvivo 15 medium complemented with 10% of serum and 1000UI of interleukin 2/mL. Lymphodepleting chemotherapy was feasible in all selected patients. Main non-hematological toxicities included grade 3 chills and fever after IL-2 injections in 6 patients, grade 3 asthenia in 5 patients and grade 2 alopecia in 6 patients. Grade 4 neutropenia and lymphopenia were observed in all patients. The mean time of lymphopenia <100/mm³ was 14 days. No dose limiting toxicity was reported. We could observe one partial objective response in CT-scan and PET-scan.

The time of disease control was 4 months in this patient. Two additional disease stabilizations were achieved.

Conclusion Allogenic NK cell adoptive transfer by injection in the liver artery appears feasible.

57

Anti-angiogenic and Immuno-modulatory effects of metronomic cyclophosphamide treatment in prostate cancer patients with PSA failure

Auteurs : Adotevi O¹⁻⁵, Maurina T⁵, Calcagno F⁵, C Laheurte^{3,4}, Kim S^{3,5}, Jary M⁵, Nguyen T⁵, Bontemps P⁶, Thierry-Vuillemin A⁵, Borg C¹⁻⁵.

1 Université de Franche-Comté, Unité Mixte de Recherche 1098, SFR IBCT, F-25020 Besançon Cedex, France

2 INSERM UMR1098, F-25020 Besançon Cedex, France

3 Clinical Investigation center-Biotherapy 506, 3 bd Fleming, F-25030 Besançon Cedex, France

4 Etablissement Français du Sang de Bourgogne-Franche Comté, UMR1098, F25020 Besançon Cedex, France

5 Department of Medical Oncology, University Hospital Jean Minjoz, 3 bd Fleming, F25030 Besançon Cedex, France

6 Department of Radiotherapy, University Hospital Jean Minjoz, 3 bd Fleming, F25030 Besançon Cedex, France

E-mail : olivier.adotevi@univ-fcomte.fr

Résumé

Background After curative local therapy, patients (pts) will experience rising PSA as an early indicator of recurrent prostate cancer and no standard of care exists. Previous studies demonstrated the clinical interest of cyclophosphamide metronomic chemotherapy (CMC) in several cancers. Multifactorial modes of action including immunological and anti-angiogenic effects have been well described by Kerbel et al and Ghiringhelli et al (Cancer Research 2006 and European Journal of immunology 2004, respectively). In the current study, we investigated the safety and immunomodulatory effects of CMC in prostate cancer patients with PSA failure (biochemical relapse).

Methods We conducted a prospective phase II study to characterize the clinical and immunological interest of CMC in histologically proven prostate cancer patients previously treated by prostatectomy and with biochemical relapse (defined as PSA > 1 and < 20ng/mL and progressive PSA level on 3 different measures). CMC was administered per os, at daily dose of 50 mg during 6 months. PSA level, serum VEGF and immune parameters were monitored every month in blood samples.

Results Thirty-four consecutive pts were enrolled in this study and all received CMC. The median age was 68,3 (range, 56,9-82,1) and all pts had good performance status (ECOG-PS = 0). Gleason Score was 7 in 58%, ≤6 in 13%, and ≥8 in 13%. No serious adverse events (grade 3-5) were observed. The most common drug-related adverse event was grade 1 lymphopenia. Baseline PSA was 2,92 ng/mL (range, 1,1- 9,35). Twenty-two pts presented stable PSA (64,7%), one patient had partial response defined by >50% decline in the serum PSA (3%), and 11 pts (32%) had PSA progression before 6 months. The immuno-monitoring performed in all pts who completed 6 months CMC. A decrease of immunosuppressive regulatory T cells (Treg) was observed in 56% (10/18). In addition, high rate of activated HLA-DR+ cytotoxic CD8 T cells was also detected in these pts. Furthermore, serum VEGF level decreased at month 1 but it returned to baseline level at the end of treatment in 9/1 pts evaluated (52%).

Résumés des posters

In some patients the correlation was observed between the control of PSA level, the decrease of Treg and VEGF parameters.

Conclusions: This study demonstrated the clinical benefit and the ability of CMC to promote the blockage of angiogenesis and immuno-modulatory effect in prostate cancer patients treated for a biochemical relapse. It will be of interest to combine CMC to vaccination in these patients.

Nouvelles Approches Thérapeutiques

58

Functionalization of N-Heterocyclic Carbene Complexes of Pd(II) and Pt(II) by Azide-Alkyne Cycloaddition for Biomedical Applications

Auteurs : E. Chardon ^{a,b}, G. Dahm ^a, G. L. Puleo ^a, G. Guichard ^b, S. Bellemin-Laponnaz ^a.

^a Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg, Département des Matériaux Organiques, UMR 7504, Strasbourg, France.

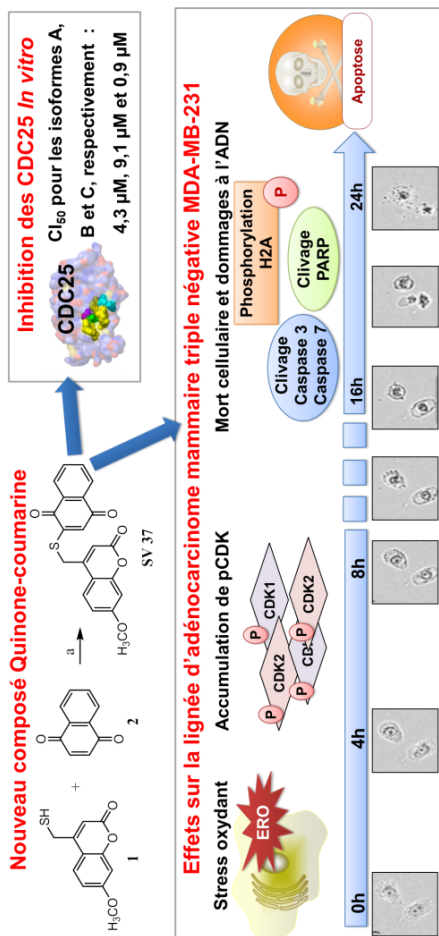
^b Institut Européen de Chimie et Biologie, Laboratoire de Chimie et Biologie des Membranes et des Nanoobjets, UMR 5248, Bordeaux, France.

E-mail : dahm@ipcms.u-strasbg.fr

Résumé

In the search for novel metal-based pharmaceuticals, we have used Ru-catalysed 1,3-dipolar cycloaddition to functionalize a series of palladium and platinum N-heterocyclic carbene complexes. This strategy was applied to the conjugation of aminoacid, polyethylene glycol and oestradiol derivatives with the aim to enhance chemical diversity and introduce specific features (e.g. water solubility, cell targeting). Antiproliferative activities of the different complexes were assayed against several cancer cell lines and healthy cell lines, which established their efficiency. The ease of structural derivatisation thus renders these novel complexes attractive metal-based systems for the development of selective targeted-metal hybrids.

Chardon, E.; Puleo, G. L.; Dahm, G.; Guichard, G.; Bellemin-Laponnaz, S. Chem. Commun. 2011, 47, 5864; Chardon, E.; Puleo, G. L.; Dahm, G.; Fournel, S.; Guichard, G.; Bellemin-Laponnaz, S. ChemPlusChem. 2012, 77, 1028.



59

Développement d'un composé quinone-coumarine inhibiteur des phosphatases CDC25: évaluation du mode d'action dans les lignées de carcinome mammaire

Auteurs : Emilie Evain-Bana, Estelle Sibille, Sergio Valente, Claudia Cerella, Patrick Chaïmbault, Gilbert Kirsch, Marc Diederich et Denyse Bagrel

Université Paul Verlaine, EA 3940 - FR CNRS 2843, LIMBP - Campus Bridoux, Rue du Général Delestraint, 57070 METZ

E-mail : emilie.bana@univ-lorraine.fr

Résumé

Contexte : Les phosphatases CDC25 sont des enzymes clés du cycle cellulaire surexprimées dans de nombreux cancers. Elles constituent des cibles intéressantes pour le développement de thérapies anticancéreuses. Cette étude vise à mettre en évidence de nouvelles classes de composés inhibiteurs des CDC25.

Méthode : Le potentiel inhibiteur d'un composé est évalué *in vitro* sur des CDC25 recombinantes humaines. Ensuite, l'analyse de plusieurs paramètres permet de définir leur mode d'action sur les cellules : cytotoxicité, mort cellulaire, génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et inhibition intracellulaire de CDC25.

Résultats : Des composés coumariniques ont montré une inhibition des CDC25 non décrite jusqu'à présent. Parmi elles, un composé coumarine-quinone présente un fort potentiel *in vitro* (CI₅₀ <5μM). Son effet sur la croissance cellulaire a été évalué sur plusieurs lignées cellulaires tumorales (CI₅₀ de 9 à 18μM) et l'étude des

Résumés des posters

mécanismes liés à la mort cellulaire a été réalisée sur le modèle de carcinome mammaire triple négatif MDA-MB-231. Des altérations morphologiques typiques de l'apoptose, un clivage des caspase-3 et 7, ainsi que la détection de marqueurs des dommages de l'ADN, suggèrent l'induction d'une mort apoptotique. En outre, l'observation d'une accumulation des pCDK intracellulaire implique une inhibition des CDC25 intracellulaires qui a pu être reliée à un mécanisme impliquant la production d'ERO dès le début du traitement.

Conclusion : Cette étude a permis de définir les coumarines en tant que nouvelle classe de composés inhibitrice des phosphatases CDC25, et de proposer un mode d'action dans les cellules pour ce type de composés. L'identification de plusieurs composés prometteurs, constitue une base solide pour le développement d'inhibiteurs des CDC25 de plus en plus efficaces.

61

Impact des dérivés thiazolidinones sur les cellules cancéreuses coliques humaines

Auteurs : Sophie HUBER, Germain Revelant, Sandrine Dunand, Gilbert Kirsch, Denyse Bagrel, Hervé Schohn et Stéphanie Hesse

Université Paul Verlaine – Metz, Ingénierie Moléculaire et Biochimie Pharmacologique (LIMBP), Campus Bridoux, Rue du Général Delestraint, 57070 METZ

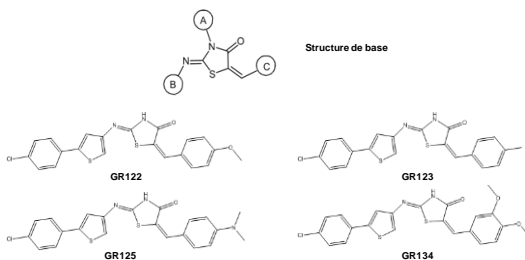
E-mail : sophiehuber@hotmail.fr

Résumé

Les dérivés de thiazolidinones sont connus pour leurs activités anti-microbienne et anti-fongique. Ce sont surtout leurs propriétés anti-cancéreuses qui ont retenu notre attention.

L'efficacité d'une cinquantaine de ces dérivés a été testée par MTT et comptage cellulaire sur plusieurs lignées de cellules coliques humaines. Les quatre dérivés les plus efficaces (Figure 1 ci jointe) ont été sélectionnés pour des études plus approfondies. Ainsi, il a été montré que ces quatre composés induisent un arrêt du cycle, visible par une accumulation des cellules en phase G2/M. De plus, ils entraînent une condensation de la chromatine et une dépoliarisation de la membrane mitochondriale, prémices de l'apoptose. Il est à noter que le marquage à l'acridine orange a permis de démontrer que ces dérivés étaient susceptibles d'induire l'autophagie, phénomène pouvant être induit par une modification du statut oxydant. En effet, tous ces traitements produisent des espèces réactives oxygénées et nitrées, même si la cinétique peut différer en fonction du composé. Cette production d'espèces réactives peut également entraîner une diminution du contenu en GSH. Néanmoins, le prétraitement par l'acide ascorbique, un antioxydant, a montré que ce stress oxydant n'était pas responsable de la diminution de prolifération observée. Enfin, cette production d'espèces réactives n'est pas capable d'activer la voie de signalisation anti-oxydante Nrf2/Keap1. La poursuite de cette étude consiste à évaluer l'influence de ces dérivés sur le métabolisme énergétique cellulaire, notamment la glycolyse et le cycle de Krebs, fortement modifié dans les cellules cancéreuses. Nous utiliserons une technique de spectrométrie de masse associée à la chromatographie liquide.

Figures_derives_thiazolidinones_selectionnes-1 - Sophie HUBER



60

Caractérisation de nouveaux composés anticancéreux ciblant le métabolisme des cellules cancéreuses

Auteurs : Christian Gaiddon, Cynthia Licona, Vania Vidimar, Georg Mellitzer, Michel Preffer

INSERM U692, LABORATOIRE DE SIGNALISATION MOLECULAIRE ET NEURODEGENERESCENCE Faculté de Médecine, 11, rue Humann, 67200 Strasbourg

E-mail : gaiddon@unistra.fr

Résumé

Bien que le développement de thérapies anticancéreuses dites ciblées offre des résultats cliniques très intéressants, l'utilisation de molécules cytotoxiques à large spectre continue de présenter un grand intérêt, y compris pour améliorer l'efficacité des traitements ciblés. Un des axes de recherche visant au développement de nouvelles molécules cytotoxiques concerne des molécules de type organométalliques contenant un atome de métal. La présence du métal offre des propriétés intéressantes aux composés. Nous développons de nouvelles molécules organométalliques spécifiques qui ont des propriétés rédox particulières. Nous avons précédemment montré que ces molécules réduisent la croissance tumorale avec une toxicité réduite comparativement au cisplatine. Nous avons maintenant démontré que ces molécules altèrent le métabolisme des cellules cancéreuses en interagissant directement avec des enzymes redox telle que PHD2. Cette interaction conduit à une inhibition des voies métaboliques Hif1 et mTOR, contrairement au cisplatine. Ceci entraîne une réduction de l'expression de gènes comme VEGF et Glu1 directement impliqués dans le métabolisme des cellules cancéreuses et donc dans leur survie. D'un point de vue physiologique, la perte de l'expression de VEGF permet d'expliquer que ces molécules à bases de ruthénium ou d'osmium réduisent l'angiogénèse dans la tumeur, contribuant ainsi à l'inhibition de la croissance tumorale.

Ces résultats soulignent l'intérêt des composés organométalliques à base de ruthénium ou d'osmium en tant qu'agent anticancéreux à large spectre et permettant d'attaquer des voies de signalisation différentes de celles des dérivés de platine ou d'autres agents cytotoxiques. Ces données nous conduisent aussi à discuter de nouvelles voies de recherche mettant à profit les propriétés intrinsèques des composés organométalliques en réalisant de molécules hybrides.

Identification of TAX2 peptide as a new anti-cancer agent.

Auteurs : Albin JEANNE, Emilie SICK, Jérôme DEVY, Christophe SCHNEIDER, Nicolas BELLOY, Valérie UNTEREINER, Ganesh SOCKALINGUM, Marie-Danièle DIEBOLD, Manuel DAUCHEZ, Laurent MARTINY and Stéphane DEDIEU

Université de Reims Champagne-Ardenne/CNRS, Unité MEDyC 6237, Laboratoire SIRMa, Signalisation et Récepteurs Matriciels, Faculté des Sciences, 51687 REIMS Cedex 2

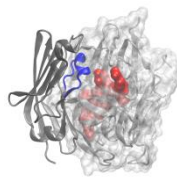
E-mail : albin.jeanne@univ-reims.fr

Résumé

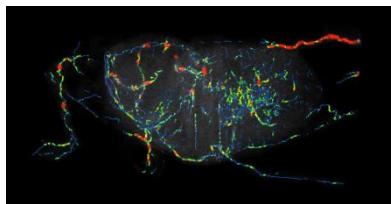
Background: Thrombospondin-1 (TSP-1) is a ubiquitously expressed multimodular glycoprotein involved in many pathophysiological processes including regulation of cell adhesion, proliferation, apoptosis, inflammation and cardiovascular response. TSP-1 binding to CD47 is widely reported to regulate cardiovascular function as it mediates vasoconstriction and limitation of angiogenesis. Over the last years, many researches focused on targeting TSP-1:CD47 interaction, aiming at up-regulation of physiological angiogenesis to enhance recovery after ischemia or to facilitate engraftment. Thus, we sought to identify and characterize an innovative molecular agent acting as an antagonist for TSP-1:CD47 interaction.

Methodology/Principal findings: Protein-protein docking and molecular dynamics simulations were conducted to design a novel CD47-derived peptide, called TAX2. TAX2 selectively antagonizes TSP-1 binding to CD47, as revealed by ELISA binding assays and co-IP experiments. Against all odds, TAX2 inhibits endothelial cell migration, formation of multicellular capillary-like structures and sprouting of microvessels from aortic explants. Such unpredicted results prompted us to investigate the biological consequences of peptide treatment in vivo in the context of tumor pathology. A multi-modal imaging approach was conducted combining histopathological staining, MVD, MRI analysis and μ CT monitoring allowing a longitudinal follow-up of tumor angiography. The results obtained from a large number of C57BL/6 mice revealed that intraperitoneal administration of TAX2 highly disturbs melanoma tumor vascularization network inducing a subsequent tumor necrosis. Furthermore, we demonstrated that TAX2 inhibits melanoma lung metastases dissemination and growth.

Conclusion: Overall, we designed a new antagonist for TSP-1:CD47 interaction exhibiting robust anti-tumor and anti-metastatic activities in vivo that could supply new innovative therapeutic approaches against malignant diseases.



1



2



3



4

1/ Un modèle d'interaction TSP-1:CD47 (résultat de docking protéine-protéine)

2/ et 3/ Deux images d'angiographie tumorale obtenues par micro-CT, après reconstruction 3D à l'aide du logiciel Amira 5.4.3. Un code-couleur dépendant du calibre des vaisseaux sanguins est utilisé dans la photo ne faisant apparaître que le réseau vasculaire associé à la tumeur (segmenté également à l'aide d'Amira)

4/ Une reconstruction 3D de la région thoracique d'une souris, avec segmentation du cœur (rouge), des poumons (bleu) et des métastases pulmonaires (vert).

Identification and characterization of the biological activity of organometallic anticancer drugs

Auteurs : LICONA Cynthia, Vidimar, V(1), Guenot D (3), Guerin E (3), Mellitzer, G (1), Pfeffer M(2), and Gaiddon, C(1)

(1)Team : "Molecular mechanisms of the stress response and pathologies", INSERM 1113, University of Strasbourg, 3 avenue Molière. 67000 STRASBOURG; (2) Chemistry institute, CNRS-Strasbourg University; (3) Cancer clinical research unit, Strasbourg University.

E-mail : cynthia.licona@etu.unistra.fr

Résumé

Platinum-based anticancer drugs, such as cisplatin, are used worldwide as a first line treatment despite their numerous side effects and drug-resistance phenomena. These platinum-based drugs induce cancer cell death via a direct interaction with cellular DNA.

In order to find novel anticancer drugs circumventing drug resistance mechanisms, we have focused on organometallic compounds with alternate metals, ruthenium and osmium, that present interesting redox properties potentially interfering with cellular redox enzymes.

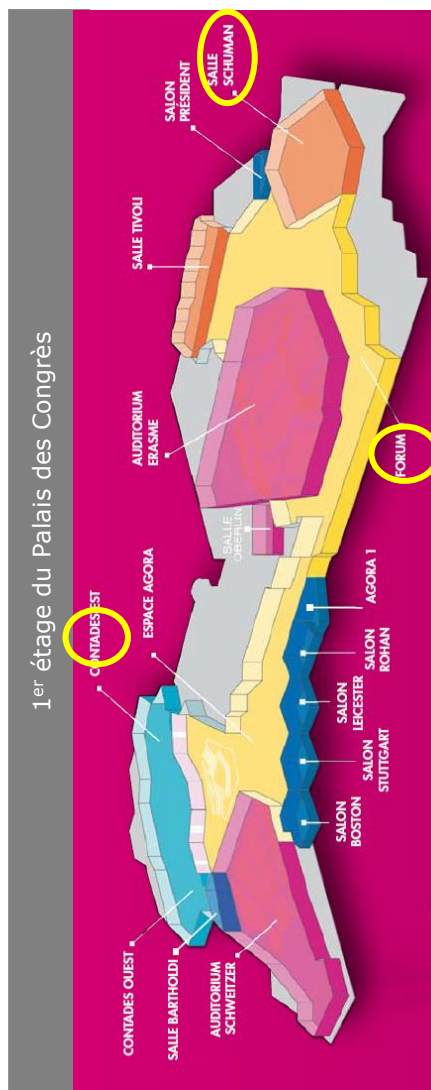
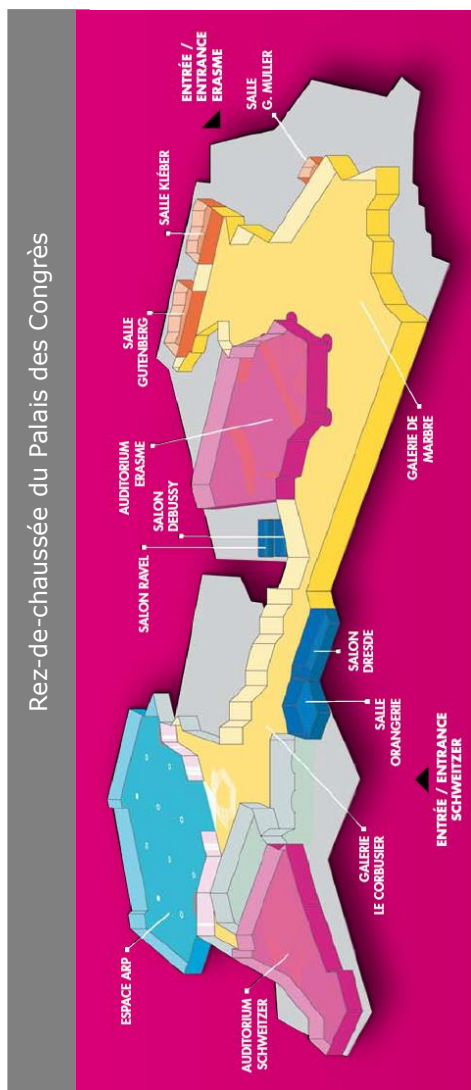
We report that a novel organometallic anticancer drug containing ruthenium, RDC11, induced cancer cell death and tumor growth inhibition through the alteration of redox enzyme and the metabolism pathways involving Hif1 and mTOR. We show that RDC11 induces rapidly the production of ROS and NAD, indicating an alteration of the cellular metabolism. These alterations correlated with the ability of RDC11 to induce apoptosis via mechanisms independent of p53 and DNA damage. Importantly, we demonstrated that RDC11 represses strongly Hif-1 protein levels through three mechanisms: transcriptional repression of Hif-1, stimulation of Hif-1 degradation, and an inhibition of Hif-1 translation through mTOR. In particular, we showed that RDC11 interacted with the hydroxylase PHD2, a redox enzyme stimulating Hif-1 degradation. In parallel, we showed that the activity of redox enzymes are regulated by RDC11. At a functional level, the repression of Hif-1 led to a diminution of Hif-1 target gene expression, such as VEGF. Finally, in vivo experiments using fragment of drug-resistant colon cancer xenografted in nude mice showed that RDC11 diminished tumors growth and tumor vascularization.

Altogether these data indicate that ruthenium-based compounds can represent interesting anticancer alternatives inducing cancer cell death through redox enzymes and deregulation of the cancer cell metabolism.

Plan du Forum

Le 7^{ème} Forum du CGE se déroule au 1^{er} étage du Palais des Congrès.

- **Conférences** : salle SCHUMANN,
- **Posters/pauses café/cocktails déjeunatoires** : FORUM,
- **Dîner de gala** : Salle CONTADES EST.



Contact : Rachel GROUBET – Tél: +33 (0)6 80 26 53 56

Notes



Nos partenaires

