

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON I

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT (Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : 16 décembre 2016

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Ana Maria NEGULESCU**

Titre de la thèse : « Identification des régulateurs de l'expression transcriptionnelle de TSPAN8 impliqués dans l'invasion précoce du mélanome cutané. »

### Résumé de la thèse

Les récepteurs membranaires sont des acteurs majeurs des interactions entre la cellule et son environnement. Ils peuvent être à l'origine des signaux de survie, de différenciation, de migration ou bien de mort cellulaire. Les travaux de ce manuscrit ont été faits sur une famille de récepteurs nommés "récepteurs à dépendance". Ils sont caractérisés par leur fonctionnement dans la cellule plutôt que par leur structure : en présence de leurs ligands ces récepteurs induisent un signal de survie et en l'absence de ces mêmes ligands ils induisent un signal actif de mort cellulaire. Ces récepteurs à dépendance représentent une cible intéressante dans le contexte d'un cancer où les cellules prolifèrent de manière aberrante car ils peuvent induire la mort cellulaire. Deux nouveaux récepteurs à dépendance ont été étudiés : Notch3 et Kremen1 dans le contexte du contrôle de l'homéostasie et plus particulièrement dans le contrôle de la tumorigenèse du cancer du sein.

Nous montrons dans un premier temps que le récepteur à dépendance Notch3 est perdu dans cancer du sein. Cette perte d'expression peut être expliquée par un gain significatif de méthylation, qui a été observé entre le tissu normal et le tissu tumoral dans les patients. Pour les tumeurs exprimant Notch3, ce dernier constitue un facteur de bon pronostic s'il est localisé dans la membrane cellulaire. La présence de la partie intracellulaire du récepteur Notch3 dans le cytoplasme ou dans le noyau n'a pas d'influence sur la survie des patientes, renforçant ainsi l'idée de récepteur à dépendance. D'autres travaux nous ont permis de montrer que Notch3 a également un rôle pro-apoptotique dans les cellules endothéliales. Des tumeurs exprimant un niveau élevé de Jagged1 ont une augmentation significative de la vascularisation due à l'engagement du récepteur Notch3 par son ligand Jagged1, empêchant ainsi la mort cellulaire due à la présence du récepteur Notch3 à la membrane cellulaire.

Des études effectuées sur des cohortes de cancer nous ont permis de voir que le ligand Dickkopf1 (Dkk1), qui lie le récepteur Kremen1, est sur-exprimé dans plusieurs cancers comme celui du pancréas, du foie ou encore celui du sein. De plus, Dkk1 est un facteur de mauvais pronostic dans les adénocarcinomes de poumon (LUAD), dans le carcinome de l'estomac (STAD), dans les cancers de tête et cou (HNSC) dans les adénocarcinomes de pancréas (COAD). Quant au récepteur Kremen1, il est perdu dans le cancer du côlon et dans le cancer du sein. Rétablir l'expression de Kremen1 ou invalider Dkk1 dans la lignée de cancer du sein de type basal MDA-MB 231 conduit à une forte mort cellulaire in vitro. De plus, l'expression du récepteur limite la croissance des colonies en soft agar. Lors de l'induction de Kremen1, les cellules présentent des caractéristiques d'autophagie. La mort cellulaire induite par Kremen1 a pu être inhibée avec un inhibiteur spécifique de l'autophagie, 3-méthyladényne (3-MA), mais pas avec des inhibiteurs classiques de l'apoptose comme z-vad, BOC ou q-VD, ni avec l'inhibiteur de la nécroptose, la necrostatine-1. De plus, un crible avec une banque shRNAs nous a permis d'identifier différentes protéines impliquées dans la

formation de l'autophagosome comme ATG4 ou Beclin1 ou dans la dégradation lysosomale comme la cathepsine B ou G. En ce qui concerne les enjeux thérapeutiques de ces travaux, nous avons pu sélectionner plusieurs anticorps dirigés contre le domaine extracellulaire de Kremen1, qui induisent de la mort cellulaire. Effectivement, en tant que récepteur à dépendance, Kremen1 induit la mort cellulaire si les anticorps empêchent l'interaction entre le ligand et le récepteur.

Ainsi, l'ensemble de ces données nous a permis de mieux comprendre l'implication de Notch3 et de Kremen1 dans l'apparition et la progression du cancer du sein tout en essayant de trouver des possibles cibles thérapeutiques visant certains sous-types comme celui basal, pour lequel à ce jour peu de thérapies sont disponibles.