



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **14 avril 2017**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Olivier MAUDUIT**

Titre de la thèse : « Identification et implication des gènes DMD et RCBTB1 dans la progression tumorale des sarcomes des tissus mous à génétique complexe. »

RÉSUMÉ DE THÈSE :



Les sarcomes sont des tumeurs rares (environ 1% des cancers) des tissus mous. Ils forment un groupe de tumeurs très hétérogène puisqu'il existe plus de 50 types de tumeurs malignes d'origine mésenchymateuse. Leur rareté et leur hétérogénéité clinique rendent la prise en charge des patients très difficile. Ainsi, il est nécessaire d'identifier et de comprendre les mécanismes de l'oncogenèse de ces tumeurs.

Pour cela, notre équipe a analysé 106 sarcomes par CGH-array et puces d'expression afin d'identifier des gènes d'intérêt pour expliquer la biologie de ces sarcomes. Grâce à des analyses intégratives bio-informatiques, deux gènes candidats majeurs ont été identifiés : les gènes RCBTB1 et DMD, dont la perte génomique et la diminution d'expression sont significativement associées à l'évolution métastatique. Le gène RCBTB1 est composé de 6 domaines RCC1 (Regulator of Chromosome Condensation 1) et de deux domaines BTB (permettant les interactions protéine/protéine). Il a déjà été décrit comme étant un potentiel gène suppresseur de tumeur impliqué dans les leucémies lymphoïdes chroniques. Le gène DMD (gène codant pour la dystrophine) est, quant à lui, notamment connu pour provoquer les myopathies musculaires de Becker et de Duchenne lorsqu'il est muté. Dans notre cohorte de sarcomes, il est délété dans 24% des synoviosarcomes, 21% des GISTs (Gastro-Intestinal Stromal Tumors) et 15% des sarcomes à génétique complexe.

Dans ce contexte, après la validation exhaustive des données de génomique à haut débit, nous avons créé des modèles cellulaires (synoviosarcomes et léiomyosarcomes) soit inhibant de façon inductible l'expression de ces gènes par shARN, soit sur-exprimant par vecteur lentiviral l'ADNc de ces gènes. Ainsi, nous avons pu évaluer l'impact de l'expression de ces gènes au niveau phénotypique par étude de la prolifération, de la résistance à l'apoptose, de la migration, de l'invasion cellulaires et de la clonogénicité.

Nos résultats montrent que la délétion de RCBTB1 est pronostique de l'évolution métastatique. Il semblerait que cela soit dû à la sensibilisation des cellules à certaines

chimiothérapies, plus particulièrement le docétaxel, lorsque RCBTB1 est surexprimé. En effet, nous avons pu montrer qu'une surexpression de ce gène augmentait le pourcentage de cellules en mitose or, le docétaxel agissant uniquement en mitose, ceci explique la sensibilisation des cellules au docétaxel. Enfin, nous avons vérifié les effets de sensibilisation au docétaxel in vivo, en étudiant la croissance tumorale après traitement en fonction de l'expression de RCBTB1.

Concernant DMD, nos résultats obtenus par RNA-seq montrent que seules deux isoformes sont exprimées dans les tumeurs d'origine myogénique : Dp427 et Dp71. Cependant, dans environ 20% des tumeurs, nous observons une délétion ciblant spécifiquement l'isoforme Dp427. L'étude d'une lignée de LMS dans laquelle j'ai inhibé spécifiquement Dp427 grâce au système CRISPr/Cas9 montre que son inactivation ne modifie ni la prolifération cellulaire ni la clonogénicité de la lignée. Etant donné que la délétion de Dp427 n'a pas d'effet sur l'agressivité des cellules, j'ai testé l'hypothèse selon laquelle Dp71 aurait un rôle oncogénique. Ainsi, l'inhibition de son expression par shARN dans deux lignées de LMS et une lignée de synoviosarcome révèle que Dp71 est nécessaire à la croissance cellulaire et à la formation de clones, car son inhibition entraîne un blocage du cycle cellulaire en phase G2/M. J'ai alors voulu tester le rôle oncogénique de Dp71 dans une lignée de myoblaste. La surexpression de Dp71 n'a pas eu d'impact sur la prolifération et la clonogénicité de ces cellules, toutefois la forte expression basale de cette protéine peut expliquer l'absence d'effet notable. En effet, les cellules musculaires immatures expriment Dp71, qui est indispensable pour leur renouvellement, et ne perdent son expression au profit de celle de Dp427 qu'au cours de la différenciation musculaire.