

Octobre-novembre-décembre 2015

Axe Valorisation des produits de la mer en cancérologie et Réseau Canaux ioniques et cancer

Joyeuses fêtes de fin d'année à toutes et à tous !

SOMMAIRE

Actualités	p1
Zoom sur... la soutenance de thèse de Camille Juin	p2
Zoom sur... la soutenance de thèse de Laure Peyta	p3
Zoom sur... la soutenance de thèse de Maxime Guéguinou	p4
Autres soutenances de l'axe et du réseau	p5
Publications	p6

Actualités

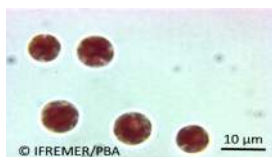
A vos agendas

- **le 12^e colloque de l'axe Valorisation des produits de la mer en cancérologie et le 3^e du Réseau Canaux ioniques et cancer** auront lieu les 30 et 31 mai 2016 en Région Pays de La Loire, au Domaine de la Plinguetière à Saint-Aignan de Grand Lieu.
Les inscriptions seront ouvertes au cours du premier trimestre 2016. Comme chaque, ces journées seront confidentielles.
Si vous souhaitez présenter vos travaux lors de ces journées, vous pouvez envoyer le titre (même provisoire) de votre communication orale à Aurore Douaud-Lecaille douaud@med.univ-tours.fr avant le 15/01/16.
- **10^{èmes} Journées du Cancéropôle Grand Ouest : appel à communications.**
Les 10^{èmes} Journées scientifiques du CGO se dérouleront les 16 et 17 juin 2016 au Centre des congrès « Les Atlantiques » aux Sables-d'Olonne. Ouvertes à tous les chercheurs, cliniciens, professionnels de santé et industriels du CGO, des autres cancéropôles de France et des organismes partenaires, elles permettront de dresser un panorama des faits scientifiques qui ont marqué l'année passée au sein du grand Ouest et/ou dans le domaine de la cancérologie. Ce sera également l'occasion pour les équipes des différents axes d'appréhender de nouvelles problématiques et de faire émerger ainsi de nouvelles collaborations inter-axes et inter-régions.
Inscriptions et renseignements: <http://www.colloquecgo.com>

Le prochain Comité de Pilotage scientifique du Cancéropôle Grand Ouest se tiendra le 14 janvier 2016 à Nantes. Les sujets à l'ordre du jour principal seront notamment le budget 2016 des axes et des réseaux ainsi que le planning et l'organisation du prochain appel d'offres Emergence.



Camille Juin a soutenu sa thèse le 19 octobre 2015 au laboratoire LIENSs UMRI CNRS 7266 de l'Université de La Rochelle. Sa recherche, menée dans l'équipe « Approches Moléculaires Environnement et Santé » sous la direction du Dr Laurent Picot et du Pr Valérie Thiéry, a été consacrée à l'extraction, l'identification et la caractérisation de pigments de la microalgue rouge *Porphyridium purpureum* (Pp). La cytotoxicité des caroténoïdes de Pp a également été évaluée sur des cellules de mélanome A2058.

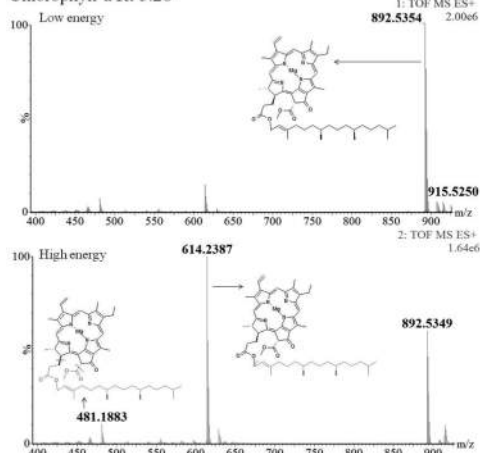


La microalgue rouge
Porphyridium purpureum (Pp).

Dans un premier temps, Camille s'est intéressée aux phycobiliprotéines de Pp. Ces pigments protéiques hydrosolubles constituent d'excellents fluorophores utilisables pour l'immunofluorescence, la cytométrie de flux ou l'ELISA. Ils sont également étudiés pour leur cytotoxicité, leur phototoxicité et leur activité de réversion de la résistance multidrogue. Camille a développé une méthode de flash extraction assistée par micro-ondes des 3 phycobiliprotéines de Pp (phycocyanine, allophycocyanine et phycoérythrine). Ce procédé permet d'améliorer significativement le rendement et la cinétique d'extraction par rapport aux techniques actuellement utilisées, tout en limitant les étapes fastidieuses de purification. Il permet d'obtenir sélectivement les pigments tout en conservant leurs propriétés de fluorescence, malgré leur thermosensibilité.

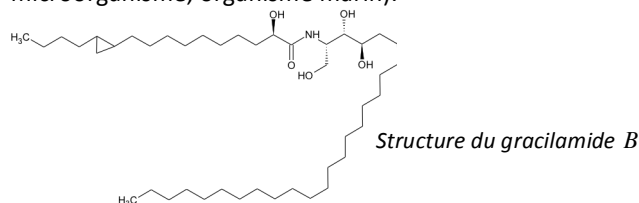
Dans un second temps, Camille a réalisé une étude métabolomique de Pp, afin de cartographier les métabolites hydrophobes par une approche d'UPLC-MS^E (Ultra-Performance Liquid Chromatography-High-resolution mass spectrometry). La MS^E permet d'obtenir en une acquisition unique la masse haute résolution d'ions parents et d'ions fragments de tous les métabolites ionisables d'un échantillon, et de les identifier sans équivoque d'après leur profil de fragmentation. Par cette approche, la composition pigmentaire de Pp a été précisée par l'identification de dérivés pigmentaires minoritaires non décrits dans l'espèce.

Chlorophyll a Rt 5.28



Caractérisation de la
chlorophylle a par
UPLC-MS^E.

Un grand nombre de dérivés lipidiques ont également été décrits, parmi lesquels le gracilamide, un céramide cytotoxique sur cellules de mélanome humain. La technique développée lors de cette thèse est utilisable pour réaliser la cartographie métabolomique de tout type d'extrait bioactif, quelle qu'en soit la source (plante, algue, microorganisme, organisme marin).



Dans un dernier volet de la thèse, Camille a caractérisé l'activité pharmacologique de la zéaxanthine, un caroténoïde cytotoxique présent en abondance chez Pp, sur la lignée de mélanome humain A2058. Ce travail a permis de préciser l'IC₅₀ de la zéaxanthine et d'identifier des voies de signalisation cellulaire perturbées par la zéaxanthine ou impliquées dans son activité pro-apoptotique. En parallèle, l'étude d'une autre algue a également démontré la forte cytotoxicité d'un caroténoïde peu étudié, la β-cryptoxanthine, sur les cellules de mélanome.

L'ensemble de ces travaux a conduit à la publication de 3 articles et d'un édito scientifique. Une quatrième publication sur la pharmacologie de la zéaxanthine est actuellement en cours de rédaction :

Juin C, Bonnet A, Nicolau E, Bérard JB, Devillers R, Thiéry V, Cadoret JP, Picot L. UPLC-MS^E profiling of phytoplankton metabolites: Application to the identification of pigments and structural analysis of metabolites in *Porphyridium purpureum*. *Marine Drugs* 13, 2541-2558, 2015.

Juin C, Chérouvrier JR, Thiéry V, Gagez AL, Bérard JB, Joguet N, Kaas R, Cadoret JP, Picot L. Microwave-assisted extraction of phycobiliproteins from *Porphyridium purpureum*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2015. 175, 1-15.

Baudelet PH, Gagez AL, Bérard JN, Juin C, Bridiau N, Kaas R, Thiéry V, Cadoret JP, Picot L. Antiproliferative activity of *Cyanophora paradoxa* pigments in melanoma, breast and lung cancer cells. *Marine Drugs*. 2015. 11, 4390-4406, 2013.

Juin C, Thiéry V, Cadoret JP, Picot L. Towards the clinical use of phytoplankton carotenoid pigments to cure cancer. *Oceanography open access* 1, Edito, 2013.

Contacts

Laurent Picot : laurent.picot@univ-lr.fr
Valerie Thiery : valerie.thiery@univ-lr.fr
Camille Juin : camille.juin@univ-lr.fr



Laure Peyta a soutenu sa thèse intitulée « Métabolisme des cardiolipines hépatiques dans la cachexie cancéreuse : Rôle dans les altérations bioénergétiques et régulation par l'inflammation ». Ses co-encadrants étaient le Pr. François Maillot (CHU et Inserm U1069) et le Pr. Stéphane Servais (Inserm U1069).

La dénutrition induite par le cancer est un syndrome multifactoriel complexe caractérisé par une balance énergétique négative et une inflammation systémique.

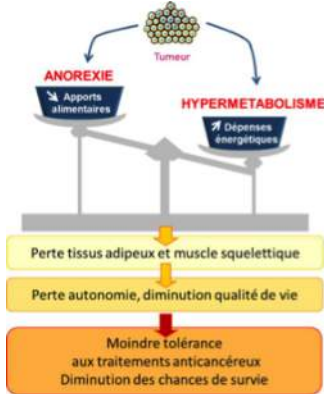


Figure 1 : La dénutrition induite par le cancer : balance énergétique négative et conséquences chez le patient.

Les précédents travaux menés au laboratoire ont montré une diminution de l'efficacité de la synthèse d'ATP au sein des mitochondries hépatiques, dans un modèle murin de cachexie cancéreuse. Cette diminution de l'efficacité de la synthèse d'ATP représente un gaspillage d'énergie qui pourrait participer à l'hypermétabolisme, et donc au déséquilibre de la balance énergétique. La quantité des cardiolipines, phospholipides spécifiques des mitochondries (figure 2), était augmentée dans le foie de rats dénutris et cette augmentation était corrélée au gaspillage énergétique mitochondrial hépatique (Dumas *et al*, 2011). L'étude *in vitro* sur des mitochondries hépatiques isolées enrichies en cardiolipines avait permis de reproduire majoritairement les altérations observées (Julienne *et al*, 2014).

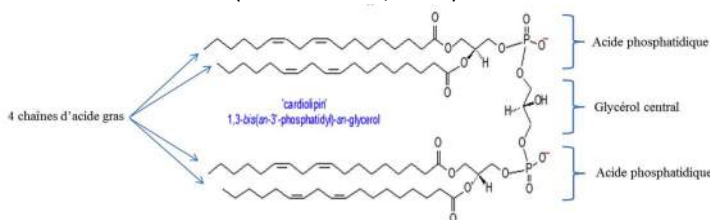


Figure 2: Structure d'une molécule de cardioline (source :AOCs Library)

Le premier objectif de la thèse était de comprendre les mécanismes à l'origine de l'accumulation des cardiolipines dans les mitochondries hépatiques des rats cachectiques. Les travaux *ex vivo* de l'équipe sur des biopsies hépatiques ont montré que l'augmentation spécifique de l'expression génique de la phosphatidylglycérolphosphate synthase (PGPS), enzyme impliquée dans la synthèse des cardiolipines, semblait responsable de l'accumulation des cardiolipines (CL) hépatiques. *In vitro*, le tumor necrosis factor- α (TNF α) induit l'augmentation de l'expression de la PGPS associée à une augmentation de la quantité de cardiolipines dans des hépatocytes (modèle HepaRG) en culture. De plus, dans ces mêmes hépatocytes, le TNF α induit aussi un gaspillage énergétique mitochondrial.

Ainsi, ils ont montré que le TNF α , cytokines participant à l'inflammation lors de la dénutrition induite par le cancer, augmente le gaspillage énergétique mitochondrial hépatique en augmentant le contenu en cardiolipines.

Le second objectif était d'étudier *in vitro* l'impact de la diminution de la quantité de cardiolipines sur le gaspillage énergétique mitochondrial hépatique. Cet objectif plus mécanistique avait pour but de mettre à jour une régulation directe du gaspillage énergétique par le contenu en cardiolipines. Ces travaux ont démontré qu'une diminution de la quantité de CL (sh dirigé contre la cardioline synthase sur la lignée hépatocytaire HepaRG) réduisait l'activité globale de la chaîne respiratoire mitochondriale en conséquence d'une déstabilisation des supercomplexes et d'une fragmentation du réseau mitochondrial. Ces modifications sont associées à une amélioration de la synthèse d'ATP. Ainsi, quand la quantité de cardiolipines augmente dans les membranes mitochondriales, le gaspillage énergétique augmente (Dumas *et al*, 2011 ; Julienne *et al*, 2014), alors qu'il diminue lorsque la quantité de cardiolipines est réduite. L'équipe a démontré ainsi que le contenu en cardiolipines participait directement à la régulation de l'efficacité de la synthèse d'ATP mitochondriale.

Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec le **Dr. Pascal Loyer de l'UMR991** à Rennes et le **Pr. Grant Hatch de l'université de Manitoba** (Canada).

Laure Peyta a eu un financement doctoral du ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Ces travaux ont été réalisés grâce au soutien financier apporté par **La Ligue contre le Cancer** (comité 16, 18, 37, 72 et 85), le **Cancéropole Grand Ouest**, la **Région Centre** (Projet LIPIDES de l'ARD2020-Biomédicaments), le **Groupe Lipides Nutrition** et l'**association CANCEN**.

Les travaux de thèse de Laure Peyta ont été valorisés par trois publications :

Peyta L, Jarnouen K, Pinault M, Guimaraes C, de Barros JP, Chevalier S, Dumas JF, Maillot F, Hatch GM, Loyer P, Servais S. Reduced cardiolipin content decreases respiratory chain capacities and increases ATP synthesis yield in the human HepaRG cells. En révision favorable dans *BBA -Bioenergetics*.

Peyta L, Jarnouen K, Pinault M, Coulouarn C, Guimaraes C, Goupille C, de Barros JP, Chevalier S, Dumas JF, Maillot F, Hatch GM, Loyer P, Servais S. Regulation of hepatic cardiolipin metabolism by TNF α : Implication in cancer cachexia. *BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2015. 1851:1490-500.

Dumas JF, Peyta L, Couet C, Servais S. Implication of liver cardiolipins in mitochondrial energy metabolism disorder in cancer cachexia. *Biochimie*. 2013. 95:27-32.

Contacts

Stéphane Servais : stephane.servais@univ-tours.fr

Laure Peyta : laure.peyta@etu.univ-tours.fr



ZOOM SUR...

Maxime Guéguinou a soutenu sa thèse intitulée « Complexes canaux KCa/Ca sensibles aux éther-lipides : régulation de la signalisation calcique dans la migration des cellules cancéreuses. » sous la direction du Dr M. Potier-Cartereau, au sein de l'Inserm-UMR 1069.

La formation de métastases est la cause majeure des décès par cancer. Le développement de métastases est consécutif à une série d'événements complexes tels que la migration, l'invasion et la prolifération cellulaire. Il a été montré que le canal SK3 (canal potassique de petite conductance activé par le Ca²⁺ intracellulaire) est impliqué dans le processus de migration des cellules épithéliales de cancer du sein et du mélanome.

En 2013, l'équipe a montré que le canal SK3 était localisé dans des nanodomains lipidiques (appelés radeaux lipidiques) avec le canal calcique Orai1. La formation de ce complexe canalaire dans cet environnement lipidique est responsable d'un influx calcique constitutif modulant la migration des cellules cancéreuses du sein ainsi que le développement de métastases osseuses (Chantôme et al, 2013).

La thèse de Maxime avait pour objectifs de caractériser les voies d'entrées de Ca²⁺ dépendantes du canal SK3 dans les cellules cancéreuses du colon et de la prostate pouvant ainsi définir une signature calcique et donc une réponse physiologique bien définie associée au complexe formé par les canaux calciques (Orais et/ou TRPs) et au canal SK3. Ses travaux ont permis d'identifier, dans les cellules cancéreuses coliques, un nouveau complexe canalaire associant les canaux TRPC1/Orai1/SK3/STIM1 au sein de nanodomains membranaires. Ce complexe, en régulant une entrée calcique activée par la déplétion en Ca²⁺ du réticulum endoplasmique (SOCE : store-operated calcium entry) favorise la migration cellules cancéreuses coliques (Figure 1).

Comme mis en évidence dans le cancer du sein, un alkyl-phospholipide de synthèse l'Ohmline, inhibiteur du canal SK3, dissocie le complexe hors des radeaux-lipides et de plus, est capable de modifier l'action d'anticorps monoclonaux thérapeutiques (Panitumumab et Cétuximab) sur la migration cellulaire dépendante de l'influx SOCE.

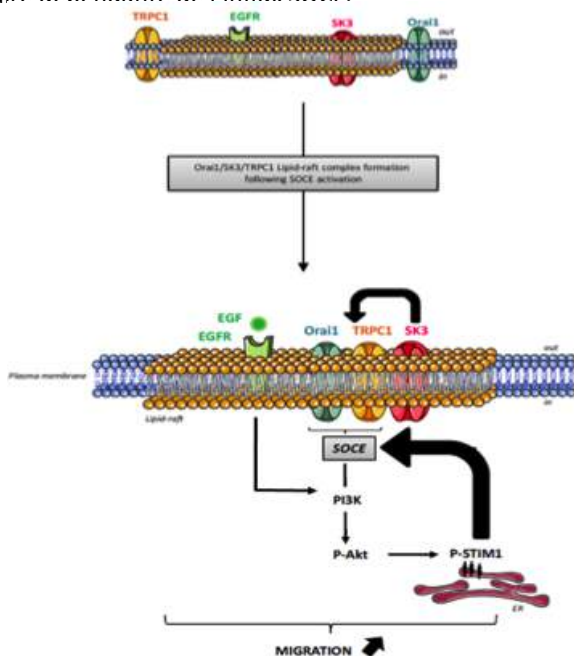


Figure 1 : Rôle du complexe TRPC1/Orai1/SK3/STIM1 de cellules cancéreuses coliques.

Un complexe différent de celui observé dans les cellules de cancer du sein et du colon a été décrit dans des cellules cancéreuses prostatiques. Il s'agit d'un complexe SK3/STIM1/Orai2 régulant une entrée calcique de type SOCE essentielle à la migration cellulaire sans affecter la prolifération. Ainsi, il pourrait exister une relation entre la nature de ces complexes et le tropisme métastatique de différents cancers : dans le cancer du sein, alors que le complexe Orai1/SK3 régule une entrée constitutive de Ca²⁺ favorisant le développement de métastases osseuses, les complexes TRP/Orai/STIM1 associés à SK3 réguleraient une entrée SOCE favorisant le développement de métastases viscérales et/ou osseuses pour le cancer colorectal et prostatique. Ce travail est le fruit d'une collaboration étroite entre les biologistes, les cliniciens et les chimistes du réseau Canaux ioniques et cancer.

Au cours sa thèse, Maxime a obtenu une bourse de congrès de l'axe Valorisation des produits de la mer en cancérologie lui permettant de participer à un congrès du Groupe De Recherche Européen, le GDRE CNRS /European Calcium Society. Ses travaux ont été récompensés par un prix poster de Ligue Nationale contre le cancer aux Journées Recherche Tours-Poitiers-Limoges 2014 et ont été sélectionnés pour une présentation orale dans le cadre des sessions jeunes chercheurs des 8èmes journées du Cancéropôle Grand Ouest aux Sables d'Olonne : « Complexe canalaire SK3/Orai1/TRPC1 dans la migration des cellules cancéreuses coliques HCT116 : effet du Cétuximab et voie AKT/Rac ».

Le jury de thèse était en partie composé par des membres du Réseau: Olivier Mignen (Brest), Bruno Constantin (Poitiers), Thierry Lecomte (Tours), Christophe Vandier et Marie Potier-Cartereau (Tours).

Maxime Guéguinou a par ailleurs obtenu un post-doctorat à Penn State University, College of Medicine, Hershey chez le Pr. Mohamed Trebak, Dpt of Cellular and molecular physiology.

Publications

- Guéguinou M et al, Oncotarget, en révision favorable
- Guéguinou M, Gambade A, Félix R, Chantôme A, Fourbon Y, Bougnoux P, Weber G, Potier-Cartereau M, Vandier C Lipid rafts, KCa/ClCa/Ca²⁺ channel complexes and EGFR signaling: Novel targets to reduce tumor development by lipids? *Biochim Biophys Acta*. 2015. 848:2603-20.
- Guéguinou M, Chantôme A, Fromont G, Bougnoux P, Vandier C, Potier-Cartereau M. KCa and Ca(2+) channels: the complex thought. *Biochim Biophys Acta*. 2014. 1843(10):2322-33. Review.
- Clarysse L, Guéguinou M, Potier-Cartereau M, Vandecasteele G, Bougnoux P, Chevalier S, Chantôme A, Vandier C. AMP-PKA inhibition of SK3 channel reduced both Ca2+ entry and cancer cell migration by regulation of SK3-Orai1 complex. *Pflugers Arch*. 2014. 466 :1921-32
- Chantome A, Potier-Cartereau M, Clarysse L, Fromont G, Marionneau-Lambot S, Gueguinou M, Pages JC, Collin C, Oullier T, Girault A, Arbion F, Haelters JP, Jaffres PA, Pinault M, Besson P, Joulin V, Bougnoux P, Vandier C. Pivotal role of the lipid raft SK3-Orai1 complex in human cancer cell migration and bone metastases.(2013). *Cancer Res*. 2013. 73:4852-61.
- Sevrain CM, Haelters JP, Chantôme A, Couthon-Gourvès H, Gueguinou M, Potier-Cartereau M, Vandier C, Jaffrès PA. Org Biomol Chem. DiGalactosyl-Glycero-Ether Lipid: synthetic approaches and evaluation as SK3 channel inhibitor. *Org Biomol Chem*. 2013. 11:4479-872013.

D'autres soutenances de thèse

De nombreuses thèses ont été soutenues dans l'axe Valorisation des produits de la mer en cancérologie et dans le réseau Canaux ioniques et cancer ces dernières semaines :

A Rennes (ISCR UMR CNRS 6226)

Christelle Mélissa AMBEU N'ta (bourses: ELECT BTP et Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche de la Côte d'Ivoire) le 16 Décembre 2015.

Titre: " Synthèse d'analogues de la pentamidine porteurs de plateformes hétérocycliques (rhodanine, benzimidazole, pyrazole et imidazole) et leurs évaluations biologiques ".

Thèse en co-tutelle entre l'Université d'Abidjan "Nangui Abrogoua UNA" (Côte d'Ivoire), co-directeur de thèse: Pr. Janat Akhanovna MAMYRBEKOVA épouse BEKRO (Laboratoire de Chimie Bio-organique & des Substances Naturelles LCBSN) et l'Université de Rennes1, sous la direction du Pr Jean-Pierre Bazureau.

DAGO Déliko Camille Évelyne (bourses: Fondation BENIANH International, TOTAL Raffinage et Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche de la Côte d'Ivoire), le 17 décembre 2015.

Titre: "Développement synthétique d'une nouvelle librairie de 5-arylidène rhodanines sous irradiation micro-onde et d'analogues du SKF-96365 comportant des plateformes pyrazole, rhodanine et leurs évaluations biologiques".

Thèse en co-tutelle entre l'Université d'Abidjan "Nangui Abrogoua UNA" (Côte d'Ivoire), co-directeurs de thèse: Pr Yves-Alain BEKRO (Laboratoire de Chimie Bio-organique & des Substances Naturelles LCBSN) et l'Université de Rennes1, Pr Jean-Pierre Bazureau.

A Rennes (Inserm - UMR 1085)

Mélanie Fouqué, le 24 novembre 2015. Titre : "Etude de la voie non-apoptotique induite par le récepteur CD95. Application dans les cancers du sein triple négatifs et développement thérapeutique " sous la direction de Dr Patrick Legembre.

A Tours (Inserm U1069)

Emeline Bon, le 7 décembre 2015 à Tours. Titre : "Implication de la sous-unité beta4 des canaux sodiques dépendants du voltage dans la régulation de l'invasivité des cellules cancéreuses mammaires et régulation de son expression par l'acide docosahexaénoïque" (voir ses travaux dans la lettre d'information de janvier 2015), sous la direction du Dr Sébastien Roger et du Pr Stéphane Chevalier.

Lucie Chauvin, le 11 décembre 2015 à Tours. Titre : "Voies de signalisation impliquées dans la sensibilisation des cellules tumorales mammaires au docétaxel par les acides gras polyinsaturés n-3", sous la direction du Pr Karine Mahéo et du Dr Caroline Goupille.

Audrey Gambade, le 18 décembre 2015 à Tours. Titre : « Rôle du peptide LL-37 dans le cancer du sein : son interaction avec la membrane plasmique stimule l'entrée de calcium et la migration cellulaire par l'activation des canaux ioniques TRPV2 et BKCa », sous la direction du Pr Günther Weber et du Dr Caroline Goupille



Sélection de publications des équipes de l'axe et du réseau

- Deliko Dago C, Ambeu N'ta C, Coulibaly WK, Bekro YA, Mamyrbekova-Bekro JA, Defontaine A, Baratte B, Bach S, Ruchaud S, Le Guével R, Ravache M, Corlu, A, Bazureau JP. Synthetic development of new 3-(4-arylmethylamino)butyl-5-arylidene-rhodanines under microwave irradiation and their effects on tumor cell lines and against protein kinases. *Molecules*. 2015, 20, 12412-12435. 3 équipes de l'axe associées.
- Boulahjar R, Ouach A, Bourg S, Bonnet P, Lozach O, Meijer L, Guguen-Guillouzo C, Le Guevel R, Lazar S, Akssira M, Troin Y, Guillaumet G, Routier S. Advances in tetrahydropyrido[1,2-a]isoindolone (valmerins) series: Potent glycogen synthase kinase 3 and cyclin dependent kinase 5 inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2015. 101:274-87. 3 équipes de l'axe associées.
- Marchand P, Bazin MA, Pagniez F, Rivière G, Boderio L, Marhadour S, Nourrisson MR, Picot C, Ruchaud S, Bach S, Baratte B, Sauvain M, Pareja DC, Vaisberg AJ, Le Pape P. Synthesis, antileishmanial activity and cytotoxicity of 2,3-diaryl- and 2,3,8-trisubstituted imidazo[1,2-a]pyrazines. *Eur J Med Chem*. 2015. 103:381-95. 2 équipes de l'axe associées.
- Dias AC, Ruiz N, Couzinet-Mossion A, Bertrand S, Duflos M, Pouchus YF, Barnathan G, Nazih H, Wielgosz-Collin G. The Marine-Derived Fungus *Clonostachys rosea*, Source of a Rare Conjugated 4-Me-6E,8E-hexadecadienoic Acid Reducing Viability of MCF-7 Breast Cancer Cells and Gene Expression of Lipogenic Enzymes. *Mar Drugs*. 2015.13:4934-48
- Peyta L, Jarnouen K, Pinault M, Coulouarn C, Guimaraes C, Goupille C, de Barros JP, Chevalier S, Dumas JF, Maillot F, Hatch GM, Loyer P, Servais S. Regulation of hepatic cardiolipin metabolism by TNF α : Implication in cancer cachexia. *Biochim Biophys Acta*. 2015 1851:1490-500. 2 équipes de l'axe associées.

Remerciements à Camille Juin, Laurent Picot, Laure Peyta, Stéphane Servais, Maxime Guéguinou, Marie Potier-Cartreau, Jean-Pierre Bazureau pour leur participation à la rédaction de la lettre.

Contact: Aurore Douaud-Lecaille, chargée de coordination
douaud@med.univ-tours.fr - 02.47.36.60.59

