

Avis de Soutenance

Madame Antonia BOUDET

RECHERCHES BIOMEDICALES Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés
L'activation du récepteur à la vitamine D et le ciblage de la kinase CDK6 dans les LAM

Travaux dirigés par Monsieur Paulo DE SEPULVEDA

Soutenance prévue le **jeudi 30 avril 2026** à 14h00

Lieu : 27 boulevard Leï Roure, bâtiment Z, 13009 Marseille

Salle : Bibliothèque

Composition du jury proposé

M. Paulo DE SEPULVEDA	Chargé de recherche	CRCM- Aix-Marseille Université	Directeur de thèse
Mme Dominique PAYET-BORNET	Directeur de recherche	CRCM- Aix-Marseille Université	Président
Mme Julie LECA	Chargée de recherche	CRCL-Université Claude Bernard Lyon 1	Examinatrice
M. Gilles LAVERNY	Directeur de recherche	I.G.B.M.C. - Université de Strasbourg	Rapporteur
M. Arnaud JACQUEL	Directeur de recherche	C3M- Nice-Université Côte d'Azur	Rapporteur

Mots-clés : Leucémie aiguë myéloïde, Progéniteurs leucémiques, Mort cellulaire, Différenciation, Calcitriol, CDK6

Résumé :

La leucémie aiguë myéloïde (LAM), la leucémie aiguë la plus fréquente chez l'adulte, présente un taux de survie à cinq ans de 35-40 % chez les patients de moins de 60 ans et de 5-15 % chez les patients plus âgés. Il s'agit d'une pathologie hétérogène résultant de modifications génétiques acquises par les cellules souches et progénitrices. À mesure que les cellules accumulent des mutations, les cellules myéloïdes immatures échouent à se différencier, prolifèrent et envahissent la moelle osseuse, perturbant ainsi le renouvellement des cellules sanguines matures. Les rechutes et la résistance aux traitements standards constituent les principales causes de mortalité et sont largement attribuées à l'hétérogénéité génétique et phénotypique des cellules leucémiques. Il existe donc un besoin crucial de nouveaux traitements capables de cibler l'ensemble des différents types cellulaires de la leucémie. Indépendamment de leur statut mutationnel, toutes les cellules de LAM dépendent de CDK6 (Cyclin-Dependent Kinase 6), une kinase impliquée dans la régulation du cycle cellulaire. Le calcitriol, forme active de la vitamine D, favorise et régule la différenciation hématopoïétique normale. Cependant, dans le contexte de la LAM, les cellules sont largement insensibles au calcitriol. Notre objectif est d'étudier les caractéristiques uniques de l'association entre l'inhibition de CDK6 et l'activation du récepteur de la vitamine D dans les cellules de LAM. Les

inhibiteurs de CDK6 combinés au calcitriol agissent de manière synergique pour augmenter la différenciation hématopoïétique et diminuer le pool de progéniteurs leucémiques dans différentes lignées cellulaires de LAM ainsi que dans des modèles primaires. De plus, cette combinaison induit une mort cellulaire dépendante des caspases. Les analyses transcriptomiques ont confirmé la régulation négative de gènes associés à l'immaturation (signatures HSPC), ainsi qu'une dérégulation de gènes impliqués dans l'apoptose après traitement. Malgré l'insensibilité initiale des LAM à la vitamine D, la combinaison thérapeutique permet de restaurer la réponse à la vitamine D. Sur le plan mécanistique, la combinaison induit des modifications étendues de l'accessibilité de la chromatine. Une analyse des footprints révèle une augmentation de la fixation de facteurs de transcription impliqués dans la différenciation sur la chromatine. Ces changements d'accessibilité sont corrélés aux modulations transcriptomiques observées au niveau des sites d'initiation de la transcription, mettant en évidence le rôle central de la régulation de la chromatine dans la reprogrammation transcriptionnelle observée. L'activation des programmes de mort cellulaire nous a conduits à analyser les effets de la combinaison sur la sensibilité des cellules de LAM au vénétoclax, un inhibiteur de facteurs anti-apoptotiques. Nous avons démontré qu'une administration séquentielle, consistant en un prétraitement par la combinaison suivi du vénétoclax, augmentait la mort cellulaire induite par le vénétoclax. Nous avons ensuite évalué cette stratégie dans plusieurs modèles de cellules résistantes au vénétoclax. De manière remarquable, nos résultats indiquent que certains mécanismes de résistance au vénétoclax, tels que la déficience en TP53, peuvent être complètement contournés par la trithérapie. En conclusion, la combinaison d'inhibiteurs de CDK6 avec des agonistes du récepteur de la vitamine D (VDR) exerce des effets pléiotropes sur les cellules leucémiques : diminution du potentiel immature, restauration de la différenciation cellulaire et promotion de la mort cellulaire par apoptose. Étant donné que l'ensemble de ces molécules est déjà approuvé par la FDA, notre étude plaide en faveur du repositionnement des inhibiteurs de CDK4/6 et de la vitamine D dans la LAM.

Summary:

Acute myeloid leukemia (AML), the most common acute leukemia in adults, has a five-year survival rate of 35–40% in patients under 60 years of age and 5–15% in older patients. AML is a heterogeneous disease resulting from acquired genetic alterations in stem and progenitor cells. As mutations accumulate, immature myeloid cells fail to differentiate, proliferate, and invade the bone marrow, thereby disrupting the renewal of mature blood cells. Relapses and resistance to standard treatments are the main causes of mortality and are largely attributed to the genetic and phenotypic heterogeneity of leukemic cells. There is therefore a critical need for novel therapies capable of targeting all cellular subpopulations of leukemia. Regardless of their mutational status, all AML cells depend on CDK6 (Cyclin-Dependent Kinase 6), a kinase involved in cell cycle regulation. Calcitriol, the active form of vitamin D, promotes and regulates normal hematopoietic differentiation. However, in the context of AML, leukemic cells are largely insensitive to calcitriol. The aim of this study is to investigate the unique features of the combination of CDK6 inhibition and vitamin D receptor activation in AML cells. CDK6 inhibitors combined with calcitriol act synergistically to enhance hematopoietic differentiation and reduce the pool of leukemic progenitors in multiple AML cell lines as well as in primary models. In addition, this combination induces caspase-dependent cell death. Transcriptomic analyses confirmed the downregulation of genes associated with immaturity (HSPC signatures), as well as the deregulation of genes involved in apoptosis following treatment. Despite AML cells initial insensitivity to calcitriol, the therapeutic combination is able to restore vitamin D responsiveness. Mechanistically, the combination induces extensive changes in chromatin accessibility. Footprint analysis reveals increased binding of differentiation-associated transcription factors to chromatin. This accessibility changes correlate with transcriptomic modulations observed at transcription start sites, highlighting the central role of chromatin regulation in the observed transcriptional reprogramming. The activation of cell death programs prompted us to analyze the

effects of the combination on the sensitivity of AML cells to venetoclax, an inhibitor of anti-apoptotic factors. We demonstrated that a sequential administration, consisting of a pretreatment with the combination followed by venetoclax, enhanced venetoclax-induced cell death. We then evaluated this strategy in several models of venetoclax-resistant cells. Remarkably, our results indicate that certain mechanisms of resistance to venetoclax, such as TP53 deficiency, can be completely bypassed by the tritherapy. In conclusion, the combination of CDK6 inhibitors with vitamin D receptor (VDR) agonists exerts pleiotropic effects on leukemic cells, including a reduction of immature potential, restoration of cellular differentiation, and promotion of apoptotic cell death. Given that all of these agents are already approved by the FDA, our study supports the repositioning of CDK4/6 inhibitors and vitamin D in AML.

LE DOYEN

Georges LEONETTI