

Avis de Soutenance

Monsieur Louis GUIRAUD

RECHERCHES BIOMEDICALES Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés
Etude de la fonction nucléaire du récepteur PTK7 dans le cancer colorectal

Travaux dirigés par Monsieur Jean-Paul BORG

Soutenance prévue le **vendredi 26 juin 2026** à 14h00

Lieu : 27 Boulevard Lei Roure, Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille

Salle : Bibliothèque du CRCM/Amphithéâtre IPC2

Composition du jury proposé

| | | | |
|-------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| M. Jean-Paul BORG | Professeur des universités - praticien hospitalier | Aix-Marseille Universités, AP-HM, Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, | Directeur de thèse |
| M. Florent PEGLION | Chargé de recherche | INSERM, Université Paris-Saclay, Hopital Gustave Roussy, U 1279 TCD:Dynamique des Cellules Tumorales | Examineur |
| Mme Katia ZANIER | Directrice de recherche | CNRS, Université de Strasbourg , Laboratoire de Biotechnologie et signalisation cellulaire(UMR 7242) | Rapporteuse |
| M. Robert-Alain TOILLON | Professeur des universités | Université de Lille, Institut ONCOLille | Rapporteur |
| M. Serge ROCHE | Directeur de recherche | CNRS, CRBM, Université de Montpellier | Président |

Mots-clés : Cancer colorectal, PTK7, HMGA1, Translocation nucléaire

Résumé :

Le cancer colorectal (CCR) est le deuxième cancer le plus mortel au monde. Il est donc impératif d'identifier de nouveaux biomarqueurs afin de favoriser le développement de traitements plus efficaces. La voie de signalisation Wnt/ β -caténine, suractivée dans le CCR, représente un point de dérégulation majeur au cours du développement de la maladie. PTK7 (protéine tyrosine kinase 7), un récepteur transmembranaire nécessaire au développement embryonnaire et impliqué dans les voies Wnt/ β -caténine et PCP, a été identifié à la fois comme un marqueur de mauvais pronostic et une cible thérapeutique dans le CCR. En tant que protéine de surface cellulaire, les propriétés oncogéniques de PTK7 ont été principalement associées à son activité membranaire. En effet, il a

déjà été démontré que la forme membranaire de PTK7 agit comme un activateur positif des voies Wnt en interagissant avec certains de leurs composants de surface, tels que les récepteurs LRP et Frizzled 5. Ces dernières années, d'autres études ont décrit l'activité membranaire de PTK7 à travers son interaction avec des récepteurs clés à la surface, notamment EGFR et FGFR1, afin de moduler leur signalisation. Malgré leur localisation surfacelle, il a été démontré que certains récepteurs à activité tyrosine-kinase transloquent dans le noyau de cellules tumorales de façon à réguler des événements de transcription à l'origine du développement de plusieurs cancers. En utilisant des techniques de fractionnement cellulaire suivies d'analyses par spectrométrie de masse, nous avons démontré la localisation de PTK7 dans les fractions nucléaires solubles et chromatiniennes de cellules de CCR exprimant le récepteur. L'immunoprécipitation de PTK7 sur lysat total a permis d'identifier les protéines de transport nucléaire SEC61, KPNB1, KPNA2 et XPO1 en tant qu'interacteurs potentiels. L'utilisation d'inhibiteurs spécifiquement dirigés contre ces protéines a confirmé leur implication dans la localisation nucléaire de PTK7. D'autres données de spectrométrie de masse, obtenues après l'utilisation d'une construction PTK7-APEX, suggèrent HMGA1, un facteur de transcription activant la voie Wnt/ β -caténine en initiant l'expression de LRP5, comme interacteur nucléaire potentiel de PTK7. Enfin, par l'intermédiaire d'analyses bio-informatiques Bulk/single-cell RNAseq, nous proposons un modèle dans lequel la forme nucléaire de PTK7 pourrait interagir avec HMGA1 au promoteur du gène LRP5, et induire l'expression du co-récepteur de façon à activer la signalisation Wnt/ β -caténine dans le CCR. La localisation surfacelle de PTK7 est également régulée par MMP14, une métalloprotéase membranaire impliquée dans la dégradation de la matrice extracellulaire et la progression métastatique. Cette protéase a récemment été caractérisée pour cliver PTK7 à la membrane, favorisant le relargage de son domaine extracellulaire et participant à l'échappement potentiel des cellules tumorales aux thérapies anti-PTK7. Les expériences de biochimie, couplées aux analyses bio-informatiques Bulk et single cell RNAseq effectuées au cours de la seconde partie de mon travail de thèse, suggèrent la co-expression des gènes MMP14 et PTK7 dans les populations fibroblastiques tumorales chez les patients présentant un CCR, ainsi que d'autres cancers dans lesquels ces gènes sont considérés comme des facteurs de mauvais pronostic. Considérées dans leur ensemble, ces données mettent évidence la pertinence du ciblage thérapeutique de l'axe PTK7-MMP14 comme vecteur d'amélioration des thérapies anti-PTK7.

Summary:

Colorectal cancer (CRC) is the second leading cause of cancer-related deaths worldwide. It is therefore imperative to identify new biomarkers to facilitate the development of more effective treatments. The Wnt/ β -catenin signaling pathway, which is overactivated in CRC, represents a major point of dysregulation during the progression of the disease. PTK7 (protein tyrosine kinase 7), a transmembrane receptor necessary for embryonic development and involved in the Wnt/ β -catenin and PCP pathways, has been identified as both a marker of poor prognosis and a therapeutic target in CRC. As a cell surface protein, the oncogenic properties of PTK7 have been primarily associated with its membrane activity. In fact, it has already been demonstrated that the membrane form of PTK7 acts as a positive activator of Wnt signaling pathways by interacting with certain surface components of these pathways, such as LRP and Frizzled 5 receptors. In recent years, other studies have described the membrane activity of PTK7 through its interaction with key surface receptors, notably EGFR and FGFR1, to modulate their signaling. Despite their surface localization, it has been shown that certain receptors with tyrosine kinase activity translocate into the nucleus of tumor cells to regulate transcriptional events underlying the development of several cancers. Using cell fractionation techniques followed by mass spectrometry analysis, we demonstrated the localization of PTK7 in the soluble and chromatin fractions of CRC cells expressing the receptor. Immunoprecipitation of PTK7 from total lysate identified the nuclear transport proteins SEC61, KPNB1, KPNA2, and XPO1 as potential interacting partners. The use of inhibitors specifically targeting these proteins confirmed their role in the nuclear localization of PTK7. Additional mass

spectrometry data, obtained following the use of a PTK7-APEX construct, suggest HMGA1, a transcription factor that activates the Wnt/ β -catenin pathway by initiating LRP5 expression, as a potential nuclear interactor of PTK7. Finally, through Bulk/single-cell RNA-seq bioinformatics analyses, we propose a model in which the nuclear form of PTK7 could interact with HMGA1 at the LRP5 gene promoter and induce expression of the co-receptor to activate Wnt/ β -catenin signaling in the CCR. The surface localization of PTK7 is also regulated by MMP14, a membrane metalloproteinase involved in extracellular matrix degradation and metastatic progression. This protease has recently been shown to cleave PTK7 at the membrane, promoting the release of its extracellular domain and contributing to the potential escape of tumor cells from anti-PTK7 therapies. Biochemical experiments, coupled with bulk and single-cell RNA-seq bioinformatics analyses conducted during the second part of my thesis work, suggest the co-expression of the MMP14 and PTK7 genes in tumor fibroblast populations in patients with CRC, as well as in other cancers in which these genes are considered poor prognosis factors. Taken together, these data highlight the relevance of therapeutic targeting of the PTK7-MMP14 axis as a means of improving anti-PTK7 therapies

LE DOYEN

Georges LEONETTI