Faculté des sciences
médicales et paramédicales
Aix-Marseille Université

AVIS DE SOUTENANCE

Mme Zainab HUSSAIN présente ses travaux en soutenance le :

14 avril 2023 à 14h00

à l'adresse suivante :

Auditorium de L'Héxagone
Faculté des Sciences
Campus Luminy
****
163 avenue de Luminy
13288 MARSEILLE Cedex 09

en vue de l'obtention du diplôme :

Doctorat en Biologie-Santé – Spécialité Oncologie

La soutenance est publique.

Titre des travaux	:	LE POTENTIEL TUMORIGENE ET IMMUNOSUPRESSIF DE LA COMMUNICATION INTERCELLULAIRE DANS L' ADENOCARCINOME CANALAIRE PANCREATIQUE
Ecole doctorale	:	Sciences de la vie et de la santé (62)
Unité de recherche	:	Centre de Recherche en cancérologie de Marseille
Directeur	:	M. RICHARD TOMASINI, DIRECTEUR DE RECHERCHE

Membres du jury

Nom	Qualité	Etablissement	Rôle
Mme CORINNE BOUSQUET	DIRECTEUR DE RECHERCHE	UNIVERSITE TOULOUSE 3	Présidente du jury
Mme JULIE GAVARD	DIRECTEUR DE RECHERCHE	UNIVERSITE NANTES	Rapporteure du jury
Mme ILIARA CASCONE	ASSISTANT PROFESSOR	UNIVERSITE DE PARIS	Membre du jury
Mme ANNE-SOPHIE CHRETIEN	MAITRE DE CONF UNIV. - PRATICIEN HOSP.	UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE	Membre du jury
M. RICHARD TOMASINI	DIRECTEUR DE RECHERCHE	UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE	Directeur

Le Doyen

Georges LEONETTI

Résumé

L'adénocarcinome canalaire pancréatique (ADKP), une maladie agressive et mortelle avec une taux de survie de moins de 8 % à 5 ans, sera prochainement la principale cause de décès liés au cancer dans les pays développés dû à un diagnostic tardif, une absence de thérapies ciblées et une résistance rapide à la chimiothérapie amenant à des soins palliatifs. Un trait unique du PDAC est le microenvironnement tumoral (MET), ou stroma, représentant jusqu'à 90 % de la masse tumorale. Le MET est hétérogène, dense et composé par les fibroblastes associés au cancer (FACs) et des macrophages réquisitionnés par les cellules néoplasiques créant des circonstances favorables à la croissance de la tumeur. Le MET est une barrière à l'immunité anti-tumorale et aux thérapies. La dynamique du stroma passe aussi par la matrice extracellulaire (MEC), armature extracellulaire assurant le soutien et communication aux cellules. Les cellules de TME sont en constante communication avec les cellules tumorales soit par contact direct cellule-cellule, cellule-matrice, ou facteurs solubles et les vésicules extracellulaires (VEs), particules délimitées par une bicouche lipidique transportant protéines et acides nucléiques.

Des études montrent que les VEs secrétées par la tumeur diffuse des vecteurs de signalisation de manière systémique, façonnant les cellules environnantes et distantes pour adopter des caractéristiques pro-tumorales. Néanmoins, il existe peu de preuves sur les mécanismes spécifiques de la tumorigenèse et de l'immunosuppression dues au VEs, en particulier sur leur impact sur la desmoplasie produite par les FACS et la différenciation des monocytes, précurseur primaire des macrophages associés aux tumeurs (MAT). Aussi les mécanismes à l'origine de la chimiorésistance acquise et le rôle du dialogue entre les populations stromales reste insaisissable.

Pour comprendre les mécanismes d'impact tumorigène des VEs et le dialogue entre les cellules stromales en opposition à l'immunité antitumorale, l'hypothèse émise est que les cellules tumorales sécrètent des VEs, modulant simultanément les monocytes infiltrant la tumeur et les FACs conduisant à la formation d'un MET immunosuppresseur. Les monocytes peuvent être directement influencés par les VEs dès leur pénétration dans les tissus et induire leur différenciation et polarisation vers un phénotype de MAT. Les monocytes qui s'infiltrent localement peuvent être impactés par la MEC produite par les FACs, qui sont en constante modulation par les VEs des cellules tumorales. Pour étudier ces deux voies d'impact, des monocytes sains ont été différenciés avec des VEs de cellules tumorales et par contact avec des FAC-MECs traitées avec des VEs de cellules tumorales, leurs caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles ont été observées. Par ailleurs, des FACs et des macrophages ont été cocultivés sous chimiothérapie pour analyse du phénotype des macrophages.

Ces travaux ont établi que les VEs de cellules tumorales différencient les monocytes en macrophages immunosuppresseurs pro-tumoraux avec une survie accrue, une phagocytose augmentée, un profil de sécrétion et une signature protéomique distincte

réduisant la prolifération, l'activation et le potentiel cytotoxique des lymphocytes T. Les FACS traités aux VEs produisent une MEC pro-tumorale par les acteurs de la voie non canonique Wnt, favorisant l'agressivité tumorale et différenciant les monocytes en un phénotype de macrophage similaire. De plus, les FACS sont capables d'induire et maintenir un phénotype de macrophage immunosuppresseur sous chimiothérapie, démontrant la complexité du dialogue intercellulaire dans le MET, soulignant l'impact local et distant des VEs des cellules tumorales sur l'immunosuppression. Les analyses à grande échelle nous ont permis d'identifier de nouvelles voies thérapeutiques potentielles de communication intercellulaire qui peuvent être utiles pour réactiver l'immunité tumorale et améliorer les réponses à la chimiothérapie.

Mots clés : cancer du pancréas, vésicules extracellulaires, fibroblastes associés au cancer, macrophages, immunosuppression, chimiorésistance

Abstract

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is an aggressive and lethal disease, with a dismal 5-year survival rate of less than 8 percent and is expected to be the leading cause of cancer-related deaths in developed countries within the next decade. These bleak characteristics are largely attributable to delayed diagnosis and the absence of targeted therapies, allotting patients with no alternatives except chemotherapy, often resulting in acquired resistance, or end-of-life palliative care. A unique and distinct trait of PDAC is the presence of a highly dense tumor microenvironment or stroma, accounting for up to 90% of the tumor bulk. The extremely heterogeneous tumor microenvironment is predominated by cancer-associated fibroblasts (CAFs) and innate immune cells, macrophages, commandeered by neoplastic cells to create a favourable circumstance for tumor growth and dissemination and to act as a barrier to anti-tumoral immunity and therapies. The dynamics of the stroma are also exhibited by the extracellular matrix (ECM), acting as a physical scaffold for surrounding cells and serving as a signalling hub. From tumor initiation, progression to therapy resistance, he multifarious aspects of the stroma are in constant communication with one another and tumor cells, mediated by direct cell-cell or cell-matrix contact, soluble factors, and importantly extracellular vesicles (EVs), small lipid-enclosed carriers of proteins and nucleic acids.

Recently acquired evidence has demonstrated that tumor cells-secreted EVs shape surrounding and distant cells to adopt pro-tumoral characteristics within the primary tumor and in premetastatic niches, owing to the capacity of EVs to carry multiple signalling effectors, and diffuse in the stroma and systemic circulation, thus making them promising diagnostic and therapeutic targets. However, there is scarce evidence on the specific mechanisms of EVs-mediated tumorigenesis and immunosuppression, specifically on their impact on CAF-produced desmoplasia and the differentiation of monocytes, the primary precursor of tumor-associated macrophages. Additionally, the mechanisms behind acquired chemoresistance and the role of the crosstalk between stromal populations remains elusive.

Thus, we sought to expand on the mechanisms of tumorigenic impact of EVs and the dialogue between stromal cells in opposition of anti-tumoral immunity. We hypothesized that tumor cells secrete EVs and modulate simultaneously tumor-infiltrating monocytes and CAFs, the latter through the production of the ECM, ultimately leading to the formation of an immunosuppressive microenvironment. As EVs freely circulate in the blood, it was postulated that monocytes can be directly influenced by EVs as early as their extravasation into tissues and induce their differentiation and polarization to a tumor-associated macrophage phenotype. Concurrently, locally infiltrating monocytes may be impacted by the ECM, produced by CAFs, which are in constant modulation by tumor-cell derived EVs. To investigate these two avenues of indirect and direct impact of EVs, healthy monocytes were differentiated with tumor cell-derived EVs and by contact with tumor cell EVs-treated CAF-ECMs, and their resulting phenotypic and functional characteristics were studied. In parallel, CAFs and

macrophages were placed in coculture to analyse the impact of CAFs on macrophage phenotype under chemotherapy.

Through this work, it was established that tumor cell-derived EVs differentiate monocytes into pro-tumoral, immunosuppressive macrophages with increased survival, phagocytosis, and a distinct secretion profile and proteomic signature. These macrophages reduced T-cell proliferation, activation, and anti-tumor cytotoxic potential. Meanwhile, EVs-treated CAFs produced a pro-tumoral ECM through the expression of actors of the Wnt non-canonical pathway, promoting tumor aggressiveness as well as differentiating monocytes to a similar yet distinct macrophage phenotype. Lastly, it was found that CAFs are capable of inducing and maintaining an immunosuppressive macrophage phenotype under chemotherapy treatment, providing a novel mechanism of stromal-induced chemoresistance. Overall, this study demonstrates the complexity of intercellular crosstalk within the tumor microenvironment of PDAC, specifically highlighting the local and distant impact of tumor-derived EVs on immunosuppression. With large-scale analyses, we have identified novel potential therapeutic avenues of tumor-stroma and stroma-stroma communication that can be utilized to reactivate tumor immunity and improve chemotherapy responses.

Keywords: Pancreatic cancer, extracellular vesicles, cancer-associated fibroblasts, macrophages, immunosuppression