

## Avis de Soutenance

Monsieur Yanis SAIDANI

### Biologie-Santé - Spécialité Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Role de CELSR2 dans la progression tumorale et son ciblage dans le cancer du sein triple négatif*

dirigés par Monsieur Jean-paul BORG et Monsieur Alexandra WALTON

Soutenance prévue le **lundi 09 septembre 2024** à 14h00

Lieu : CRCM INSERM U1068 - 27 Bd Leï Roure - 13009 MARSEILLE

Salle : Bibliothèque CRCM

#### Composition du jury proposé

M. Jean-paul BORG	Aix-Marseille Université	Directeur de thèse
Mme Alexandra WALTON	Aix Marseille Université	Co-directrice de thèse
Mme Julie PANNEQUIN	Institut de génomique fonctionnelle	Rapporteuse
Mme Ines LIEBSCHER	Université de Leipzig	Rapporteuse
M. Franck VANDERMOERE	Institut de génomique fonctionnelle	Examineur
Mme Emmanuelle CHARAFE-JAUFFRET	Aix Marseille Université	Président

**Mots-clés :** Oncologie,Cancer du sein,GPCR,,

#### Résumé :

Le cancer du sein triple négatif pose un défi majeur de santé publique. C'est une maladie caractérisée par une hétérogénéité, des métastases fréquentes et une résistance au traitement par chimiothérapie. Bien qu'un certain nombre de thérapies ciblées aient été approuvées ces dernières années pour la prise en charge des patientes, telles que les inhibiteurs de PARP et les checkpoint inhibiteurs, la plupart des patientes demeurent inéligibles pour ces nouvelles thérapies. Dans le but de développer de nouveaux traitements pour le traitement du cancer du sein triple négatif, nous nous sommes intéressés à Cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 2 (CELSR2), un récepteur d'adhésion couplé à une protéine G qui a été principalement étudié dans le développement neuronal, les maladies cardiovasculaires, la scoliose, les anomalies du métabolisme...etc. Dans cette étude, nous avons constaté qu'une surexpression de CELSR2 est positivement corrélée à la fois à une survie sans métastases significativement réduite et à la survie globale des patientes atteintes d'un cancer du sein triple négatif. De plus, en analysant les données transcriptomiques des patients, nous avons constaté que l'expression de CELSR2 est augmentée dans le site métastatique comparé à la tumeur primaire. Au niveau single cell, nous constatons que CELSR2 est principalement exprimé sur les cellules malignes, tandis que les tissus sains présentent une faible expression, ce qui fait potentiellement du récepteur une cible désirable en clinique. Dans la présente étude, nous avons élucidé le rôle fonctionnel du récepteur en le downrégulant avec des siRNA ou des shRNA : on observe une diminution significative de la prolifération cellulaire, la migration cellulaire et l'invasion à travers la matrice. Nous avons découvert que CELSR2 signale via la voie cAMP/PKA/CREB afin de

favoriser la phosphorylation oxydative. De plus, nous avons xéno greffé des cellules TNBC downrégulées pour CELSR2 sur des souris NSG immunodéficientes chez lesquelles nous avons observé un ralentissement de la croissance tumorale et une diminution globale de l'activité Ki67. Dans le but d'évaluer le ciblage thérapeutique du récepteur avec des nanobodies, nous avons immunisé des lamas avec des membranes cellulaires de MCF7, une lignée cellulaire exprimant de haut niveau de CELSR2. Après la construction de la librairie, nous avons effectué des criblages en alternant cellules et protéine recombinante et sélectionné deux nanobodies spécifiques de CELSR2. Lors du traitement des cellules avec les nanobodies spécifiques de CELSR2, on observe une diminution de la prolifération et la migration cellulaire, imitant les phénotypes observés lorsqu'on downrégule le récepteur. En résumé, cette étude dévoile un nouveau rôle pour CELSR2 dans la progression tumorale ainsi qu'une preuve de concept de son potentiel en thérapie ciblée pour le traitement du cancer du sein triple négatif.

**LE DOYEN**  
  
**Georges LEONETTI**

# Résumé

Le cancer du sein triple négatif pose un défi majeur de santé publique. C'est une maladie caractérisée par une hétérogénéité, des métastases fréquentes et une résistance au traitement par chimiothérapie. Bien qu'un certain nombre de thérapies ciblées aient été approuvées ces dernières années pour la prise en charge des patientes, telles que les inhibiteurs de PARP et les checkpoint inhibitors, la plupart des patientes demeurent inéligibles pour ces nouvelles thérapies. Dans le but de développer de nouveaux traitements pour le traitement du cancer du sein triple négatif, nous avons identifié le récepteur Cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 2 (CELSR2), un récepteur d'adhésion couplé à une protéine G qui a été principalement étudié dans le développement neuronal, les maladies cardiovasculaires, la scoliose, les anomalies du métabolisme...etc. Dans cette étude, nous avons constaté qu'une surexpression de CELSR2 est positivement corrélée à la fois à une survie sans métastases significativement réduite et à la survie globale des patientes atteintes d'un cancer du sein triple négatif. De plus, en analysant les données transcriptomiques des patients, nous avons constaté que l'expression de CELSR2 est augmentée dans le site métastatique comparé à la tumeur primaire. Au niveau single cell, nous constatons que CELSR2 est principalement exprimé sur les cellules malignes, tandis que les tissus sains présentent une faible expression, ce qui fait potentiellement du récepteur une cible désirable en clinique. Dans la présente étude, nous avons élucidé le rôle fonctionnel du récepteur en le downrégulant avec des siRNA ou des shRNA : on observe une diminution significative de la prolifération cellulaire, la migration cellulaire et l'invasion à travers la matrice. Nous avons découvert que CELSR2 signale via la voie cAMP/PKA/CREB afin de favoriser la phosphorylation oxydative. De plus, nous avons xéno greffé des cellules TNBC downrégulées pour CELSR2 sur des souris NSG immunodéficientes chez lesquelles nous avons observé un ralentissement de la croissance tumorale et une diminution globale

de l'activité Ki67. Dans le but d'évaluer le ciblage thérapeutique du récepteur avec des nanobodies, nous avons immunisé des lamas avec des membranes cellulaires de MCF7, une lignée cellulaire exprimant de haut niveau de CELSR2. Après la construction de la librairie, nous avons effectué des criblages en alternant cellules et protéine recombinante et sélectionné deux nanobodies spécifiques de CELSR2. Lors du traitement des cellules avec les nanobodies spécifiques de CELSR2, on observe une diminution de la prolifération et la migration cellulaire, imitant les phénotypes observés lorsqu'on downrégule le récepteur. En résumé, cette étude dévoile un nouveau rôle pour CELSR2 dans la progression tumorale ainsi qu'une preuve de concept de son potentiel en thérapie ciblée pour le traitement du cancer du sein triple négatif.

Mots clés : Cancer du sein triple négatif (TNBC), RCPG d'adhésion, CELSR2, nanobodies

# Abstract

Triple negative breast cancer poses a major public health challenge. It is a disease characterized by heterogeneity, frequent distant metastasis and resistance to conventional treatment. Although a number of targeted therapies have been approved in recent years for the treatment such as PARP inhibitors and immune checkpoint inhibitors, most patients do not benefit from these novel therapies. With the aim of developing novel therapeutics for the treatment of triple negative breast cancer, we identified Cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 2 (CELSR2), an adhesion G-protein coupled receptor which has been mostly studied in neural development, coronary artery disease, scoliosis, metabolism defects...etc. Yet, we found that an overexpression of CELSR2 correlates positively with both a significantly decreased metastasis free survival and overall survival of triple negative breast cancer patients. Moreover, by analyzing public transcriptomics patient data we found that CELSR2 expression is increased in the metastatic site when paired with the primary tumor. At a single cell level, we find CELSR2 mostly expressed on malignant cells, while healthy tissue exhibits a low expression, potentially making the receptor a desirable target in the clinic. In the present study, We elucidated the functional role of the receptor by knocking down the receptor with siRNA or shRNA : the resulting phenotypes significantly dampened cell proliferation, cell migration and invasion through the matrix. We aimed to investigate the molecular pathway to explain the observed phenotype, we found that CELSR2 signals through the cAMP/PKA/CREB pathway to promote oxidative phosphorylation in cells. Moreover, we xenografted TNBC cells knocked down for CELSR2 in immunodeficient NSG mice in which we observed a hindered tumor growth and an overall decrease of Ki67 activity. With the aim of assessing the druggability of the receptor with nanobodies, we immunized lama with cell membranes of MCF7, a highly expressing cell line for CELSR2. After library construction, we performed screens by alternating between cells

and recombinant protein and selected two nanobodies specific for CELSR2. Upon treatment of cells with the nanobodies specific to CELSR2, we hinder cell proliferation and migration, mimicking the observed phenotypes when we knockdown the receptor. Altogether, this study unveils a novel role for CELSR2 in tumor progression along with a proof of concept of its potential as a targeted therapy candidate for triple negative breast cancer.

keywords : Triple negative breast cancer (TNBC), adhesion GPCRs, CELSR2, nanobodies