Avis de Soutenance

Monsieur Mauro VEDELAGO

Biologie-Santé - Spécialité Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Origine des Cellules Drug-Tolerant Persister (DTP) dans le Cancer du Sein Triple Negatif

dirigés par Madame Emmanuelle CHARAFE-JAUFFRET et Monsieur CHRISTOPHE GINESTIER

Soutenance prévue le ***vendredi 03 novembre 2023*** à 13h30
Lieu : Centre de Recherche en Cancerologie de Marseille, 27 Bd Leï Roure, CS 30059 13273 Marseille Cedex 09
Salle : Biblioteque CRCM Bat. Z

Composition du jury proposé

Mme Emmanuelle CHARAFE-JAUFFRET	Centre de Recherche en Cancerologie de Marseille - CRCM	Directrice de thèse
M. Christophe GINESTIER	Centre de Recherche en Cancerologie de Marseille - CRCM	Co-directeur de thèse
Mme Julie PANNEQUIN	Institut de Genomique Fonctionelle - IGF	Rapporteure
M. Thierry VIROLLE	Institut de Biologie Valrose - IBV	Président
M. Chann LAGADEC	ONCOLille - Canther	Rapporteur

Mots-clés : Plasticité cellulaire,cellules souches,Chimiorésistance,Cellules persistant,

Résumé :

Ces deux dernières décennies ont révélé la complexité moléculaire du cancer du sein, conduisant à l'expansion du portefeuille de thérapies ciblées, et finalement à l'amélioration des soins du cancer. Malgré un arsenal thérapeutique fourni, les oncologues ont fait face à l'émergence de tumeurs récidivantes multi-résistantes. Il est maintenant clair qu'un seul génome de cancer peut générer de multiples états phénotypiques et que les cellules cancéreuses peuvent basculer entre les etats et survivre aux traitements. Pour cela, le but de ce travail est de mieux comprendre la plasticité cellulaire et l'hétérogénéité tumorale dans le contexte de la chimiorésistance dans le cancer du sein, meleée par des mécanismes non-génétiques. À cette fin, nous avons cartographié l'hétérogénéité phénotypique des tumeurs dans la lignée cellulaire du cancer du sein triple négatif SUM159, en utilisant scRNAseq. Nous avons identifié quatre cluster, présentant une signature spécifique de marqueurs de surface cellulaire. En utilisant le tri cellulaire par cytométrie de flux, nous avons démontré que chaque cluster était auto-entretenue lorsqu'elle est cultivée séparément. Pour modéliser la dynamique de transition entre états cellulaires pendant et après traitement, nous avons administré une chimiothérapie à forte dose aux cellules SUM159 et suivi le comportement des clusters par cytométrie en flux. Très peu de cellules ont survécu au traitement en entrant dans un état de cellule DTP, caractérisé par un phénotype commun. Après une période de récupération, les

cellules quittent l'état DTP et rechutent, ramenant le phénotype à l'état d'équilibre initial. Seulement deux clusters de cellules SUM159 peuvent entrer dans l'état de DTP et rechuter efficacement, tandis que les deux autres ont rechuté dans une moindre mesure. Ces résultats suggèrent que l'entrée à l'état DTP est obligatoire pour que les cellules résiduelles génèrent une rechute. De plus, lorsque les cellules SUM159 étaient soumises à de multiples cycles de chimiothérapie, elles affichaient une chimiosensibilité décroissante à chaque rechute, même si elles avaient une architecture de cluster similaire. Toutes ces données suggèrent que les cellules SUM159 ont peut-être développé une mémoire après avoir été confrontées à un cycle répété de chimiothérapie. Une approche d'ARN-seq couplée à ATAC-seq sur SUM159 Naïve, DTP et cellules rechutées nous aidera à identifier DTP et régulateurs de rechute dans le cancer du sein pour améliorer les soins aux patients.

LE DOYEN

Georges LECNETTI

Résumé

Ces deux dernières décennies ont révélé la complexité moléculaire du cancer du sein, conduisant à l'expansion du portefeuille de thérapies ciblées, et finalement à l'amélioration des soins du cancer. Malgré un arsenal thérapeutique fourni, les oncologues ont fait face à l'émergence de tumeurs récidivantes multi-résistantes. Il est maintenant clair qu'un seul génome de cancer peut générer de multiples états phénotypiques et que les cellules cancéreuses peuvent basculer entre les etats et survivre aux traitements. Pour cela, le but de ce travail est de mieux comprendre la plasticité cellulaire et l'hétérogénéité tumorale dans le contexte de la chimiorésistance dans le cancer du sein, meleée par des mécanismes non-génétiques. À cette fin, nous avons cartographié l'hétérogénéité phénotypique des tumeurs dans la lignée cellulaire du cancer du sein triple négatif SUM159, en utilisant scRNAseq. Nous avons identifié quatre cluster, présentant une signature spécifique de marqueurs de surface cellulaire. En utilisant le tri cellulaire par cytométrie de flux, nous avons démontré que chaque cluster était auto-entretenue lorsqu'elle est cultivée séparément. Pour modéliser la dynamique de transition entre états cellulaires pendant et après traitement, nous avons administré une chimiothérapie à forte dose aux cellules SUM159 et suivi le comportement des clusters par cytométrie en flux. Très peu de cellules ont survécu au traitement en entrant dans un état de cellule DTP, caractérisé par un phénotype commun. Après une période de récupération, les cellules quittent l'état DTP et rechutent, ramenant le phénotype à l'état d'équilibre initial. Seulement deux clusters de cellules SUM159 peuvent entrer dans l'état de DTP et rechuter efficacement, tandis que les deux autres ont rechuté dans une moindre mesure. Ces résultats suggèrent que l'entrée à l'état DTP est obligatoire pour que les cellules résiduelles génèrent une rechute. De plus, lorsque les cellules SUM159 étaient soumises à de multiples cycles de chimiothérapie, elles affichaient une chimiosensibilité décroissante à chaque rechute, même si elles avaient une architecture de cluster similaire. Toutes ces données suggèrent que les cellules SUM159 ont peut-être développé une mémoire après avoir été confrontées à un cycle répété de chimiothérapie. Une approche d'ARN-seq couplée à ATAC-seq sur SUM159 Naïve, DTP et cellules rechutées nous aidera à identifier DTP et régulateurs de rechute dans le cancer du sein pour améliorer les soins aux patients.

Mots clés: plasticité cellulaire, cellules souches, chimioresistance, cellules persistants

Abstract

These last two decades have revealed the molecular complexity of breast cancer, leading to the expansion of targeted therapy portfolio, and ultimately improving cancer care. Despite a furnished therapeutic arsenal, oncologists faced the emergence of multi-resistant relapsing tumors. It is now clear that a single cancer genome can generate multiple phenotypic states and cancer cells can switch in between to overcome treatment. Therefore, the goal of this work is to unravel the cell plasticity and tumor heterogeneity involvement in driving breast cancer chemoresistance via non-genetic mechanisms. To this end, we mapped tumor phenotypic heterogeneity in SUM159 triple negative breast cancer cell line, using scRNAseq. We identified four cell clusters presenting a specific signature of cell surface markers. Using cell sorting by flow cytometry, we demonstrated that each clusters was self-maintained when cultivated separately. To model cell-state transition dynamics during and after treatment, we administrated high-dose chemotherapy to SUM159 cells and followed clusters behavior by flow cytometry. Very few cells survived the treatment by entering a DTP-cell state, characterized by a phenotype switch. After a recovery period, cells leave the DTP-state and relapse, returning the phenotype to the initial steady-state. Interestingly, only two of the four SUM159 cell clusters are able to enter DTP-state and relapse efficiently, while the other two relapsed to a lesser extent. These results suggest that entry to DTP-state is mandatory for residual cells to generate relapse. Moreover, when SUM159 cells were subjected to multiple chemotherapy cycles, they displayed a decreasing chemosensitivity with each relapse, even though they had a similar cluster architecture. All these data suggest that SUM159 cells may have developed a memory after being challenged to repeated cycle of chemotherapy. An approach of RNA-seq coupled with ATAC-seq on SUM159 Naïve, DTP and Relapsed cells will help us to identify DTP and relapse master regulators in breast cancer to improve patients care.

Keywords: cell plasticity, stem cells, chemoresistance, persister cells