

Avis de Soutenance

Monsieur NICOLAS PONS

SCIENCES DU VIVANT Biologie du Cancer

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Développement d'une plateforme de tumoroïdes de carcinome hépatocellulaire à partir du modèle murin Alb-R26Met : hétérogénéité tumorale, résistance thérapeutique et évaluation de la combinaison romidepsine-cabozantinib

Travaux dirigés par Monsieur Flavio MAINA

Soutenance prévue le **vendredi 16 octobre 2026** à 14h00

Lieu : Centre de Recherche en Cancérologie e Marseille, CRCM, 27 boulevard Lei Roure, 13009
Marseille

Salle : bibliothèque

Composition du jury proposé

M. Flavio MAINA	Directeur de recherche	CRCM - Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, Aix Marseille Université	Directeur de thèse
Mme Mirjam ZEISEL	Directeur de recherche	PathLiv - Physiopathologie et Traitement des Maladies Hépatiques, Université Lyon 1	Rapporteure
Mme Christèle DESBOIS-MOUTHON	Directrice de recherche	Centre de Recherche des Cordeliers, Sorbonne Université	Rapporteure
M. Jean-Charles DUCLOS-VALLEE	Professeur des universités - praticien hospitalier	HEPAREG - Physiopathogenèse et traitement des maladies du foie, Université Paris Sud	Président

Mots-clés : carcinome hépatocellulaire, tumoroïdes hépatiques, traitements

Résumé :

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la forme la plus fréquente de cancer primitif du foie et représente la troisième cause de mortalité par cancer dans le monde. Son pronostic est sévère, marqué notamment par un diagnostic souvent tardif, une hétérogénéité moléculaire importante et une résistance quasi-systématique aux thérapies ciblées. Le développement de modèles précliniques fidèles à la biologie tumorale humaine représente ainsi un impératif pour découvrir de nouvelles stratégies thérapeutiques telles que les tumoroïdes. Ce travail de thèse s'articule autour de deux axes complémentaires. Le premier, sous forme de scoping review (Article 1), a permis de réaliser un

état des lieux des défis et stratégies actuels pour améliorer la culture des tumoroïdes de CHC. Cinq axes d'amélioration ont ainsi été mis en évidence : l'élimination des cellules non tumorales contaminantes, la reconstitution du microenvironnement tumoral, l'enrichissement en cellules souches cancéreuses, l'utilisation de technologies innovantes (acoustofluidique, bio-impression 3D) et la réalisation d'une étape transitoire de culture 2D avant ensemencement en 3D. Le second axe (Article 2) s'est basé sur le modèle Alb-R26Met afin de générer des tumoroïdes murins de CHC. Ainsi, ce modèle fondé sur une légère augmentation de l'expression du récepteur tyrosine kinase MET sauvage dans les hépatocytes, génère spontanément des CHC dont le profil moléculaire correspond au sous-type « prolifératif-progéniteur » humain qui est le plus agressif et de moins bon pronostic. La fidélité du modèle vis-à-vis du CHC humain a été validée par comparaison avec quatre cohortes indépendantes de patients à plusieurs niveaux : transcriptomique, épigénomique et immunitaire. A partir des tumeurs de ce modèle, un panel de huit lignées primaires de CHC (HCC16 à HCC23) a été mis au point. Ces dernières présentent une hétérogénéité morphologique, transcriptomique et signalétique documentée. Ces cellules ont par la suite été utilisées pour générer avec succès des tumoroïdes (tHCC16 à tHCC23) avec un taux de réalisation de 100% versus 26 à 30% habituellement rapportés chez l'humain. Les tumoroïdes ainsi créés conservent les caractéristiques histopathologiques et moléculaires des tumeurs parentales sur plusieurs passages et présentent une résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase cliniquement utilisés, reproduisant la réalité clinique observée dans le cadre du CHC avancé. La valeur translationnelle du panel a été mise en évidence par l'évaluation de la combinaison romidepsine-cabozantinib (RomiCabo) dont l'efficacité a été démontrée sur les tumoroïdes résistants aux traitements de référence. En définitive, ce travail apporte une double contribution. Méthodologique d'abord en validant une stratégie de culture améliorant le taux de succès des tumoroïdes de CHC, et translationnelle d'autre part, en fournissant une plateforme préclinique hétérogène pour l'identification de nouvelles combinaisons thérapeutiques dans les formes les plus agressives du CHC.

Summary:

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most frequent form of primary liver cancer and the third leading cause of cancer-related mortality in the world. Its prognosis is severe, with frequent late-stage diagnosis, remarkable molecular heterogeneity, and near-systematic resistance to available targeted therapies. The development of faithful preclinical models that recapitulate human tumour biology, such as tumoroids, is therefore critical for identifying novel therapeutic strategies. This thesis work is organised around two complementary axes. The first one, a scoping review (Article 1), established an overview of the challenges and emerging strategies for improving HCC tumoroid culture. Five strategic axes were identified: elimination of contaminating non-tumour cells, reconstitution of the tumour microenvironment, enrichment in cancer stem cells, use of innovative technologies (acoustofluidics, 3D bioprinting), and implementation of a translational 2D culture step prior 3D seeding. The second axis (Article 2) was based on the Alb-R26Met model to generate HCC murine tumoroids. Indeed, this model based on a subtle elevation of wild-type MET receptor tyrosine kinase in hepatocytes, spontaneously generates HCC tumours whose molecular signature corresponds to the human "proliferative-progenitor" subtype that is the most aggressive and poorest prognosis subtype. The fidelity of the model regarding human HCC was established at multiple levels, transcriptomic, epigenomic and immune. From spontaneous tumours of this model, a panel of eight primary HCC cell lines (HCC16 to HCC23) was established. They displayed documented morphological, transcriptomic and signalling heterogeneity. These cells were then successfully used to generate tumoroids (tHCC16 to tHCC23) with a 100% success rate, compared to the 26-30% typically recorded in humans. The tumoroids created retain the histopathological and molecular characteristics of the parental tumours over passages and display a resistance to clinically used tyrosine kinase inhibitors, faithfully reproducing the clinical reality of advanced HCC. The translational value of the panel was demonstrated through evaluation of the romidepsin-

cabozantinib combination (RomiCabo), whose superior efficacy was demonstrated on tumoroids resistant to standard-of-care treatments. To conclude, this work provides a dual contribution. First methodologically by validating a culture strategy that significantly improves the HCC tumoroid success rate, and secondly by providing a heterogenous preclinical platform for the identification of new therapeutic combinations in the most aggressive forms of HCC.

LE DOYEN

Georges LEONETTI