

**Développement d'un « gut-on-chip » comme outil de screening pour tester les effets de métabolites bactériens sur la barrière épithéliale intestinale dans un contexte de stress inflammatoire**

Valentine Moullé, Philippe Aubert, Michel Neunlist

U1235 TENS, 1 rue Gaston Veil, 44035 Nantes

Le microbiote intestinal est un acteur clé de l'axe intestin-cerveau. Sa dérégulation pourrait être à l'origine de pathologies neurologiques centrales, en particulier via l'augmentation de la perméabilité intestinale et le passage de médiateurs pro-inflammatoires (métabolites, vésicules extracellulaires...) dans l'hôte. L'objectif de ce projet est de développer un modèle de « gut-on-chip » comme outil de screening pour tester l'effet de multiples métabolites bactériens sur la perméabilité intestinale dans un contexte de stress inflammatoire.

Nous avons utilisé un système de puces (Organoplate®, Mimetas) dans lequel nous avonsensemencé des cellules Caco2 (entre P55 et P70) sur une matrice de collagène I. Après 6 jours de culture, les tubes de Caco2 ont été traités soit 48h avec un cocktail inflammatoire (TNFa/IL1b/IFNg ; 100/10/10 ng/ml) soit 24h avec de la staurosporine (40 nM). En même temps, plusieurs métabolites bactériens ont été ajoutés dans le compartiment apical. A la fin, la perméabilité des tubes de Caco2 a été évaluée.

Le cocktail inflammatoire et la staurosporine induisent une augmentation de la perméabilité à l'acide sulfonique (0,4 kD) et au dextran (4 kD). Seuls la putrescine (5 µM) dans la condition inflammatoire, et l'indole (100 µM) et l'indole-3-carboxaldéhyde (100 µM) dans la condition staurosporine, diminuent significativement l'augmentation de la perméabilité induite par les stressseurs.

En conclusion, le modèle de « gut-on-chip » a permis d'identifier 3 métabolites bactériens susceptibles de prévenir l'augmentation de la perméabilité induite par la staurosporine. Des expériences sont en cours pour 1) valider ces résultats sur des Caco2 cultivées sur filtre, et 2) complexifier cet outil en intégrant la composante nerveuse dans ce système.

Mots-clés : barrière épithéliale intestinale, métabolites, microbiote, inflammation

## Rôle d'un défaut d'autophagie dans les cellules de l'épithélium intestinal combiné à l'effet délétère d'un régime occidental et d'une infection d'une *Escherichia coli* adhérente invasive (AIEC) sur l'homéostasie intestinale chez la souris male adulte.

Melvin Airaud<sup>1</sup>, Angéline Duval<sup>2</sup>, Hang Nguyen<sup>2\*</sup>, Sandrine Ménard<sup>1\*#</sup>, Frédérick Barreau<sup>1\*#</sup>

<sup>1</sup>IRSD, Université Toulouse III - Paul Sabatier, INSERM, INRAE, ENVT, CHU Purpan, Place du Dr Baylac, 31300, Toulouse, France.

<sup>2</sup>M2iSH, Université Clermont Auvergne, INSERM, INRAE, 49 Bd François Mitterrand, 63000, Clermont-Ferrand, France.

\* Equal contribution,

# co-corresponding authors: [frederick.barreau@inserm.fr](mailto:frederick.barreau@inserm.fr), [sandrine.menard@inserm.fr](mailto:sandrine.menard@inserm.fr)

**Contexte** : La maladie de Crohn est une pathologie multifactorielle impliquant des facteurs génétiques (mutations du gène de l'autophagie *Atg16l1*) et environnementaux comme la colonisation par un *E. coli* adhérent invasif (AIEC) et un régime occidental riche en gras et sucres.

**Objectif** : Notre étude analyse les conséquences d'un défaut d'autophagie dans les cellules de l'épithélium intestinal (*Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>*) combiné à un régime occidental et une colonisation par une AIEC sur l'homéostasie intestinale.

**Méthode** : Des souris *Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>* ont été nourries 16 semaines avec un régime riche en gras et en sucre (HF/HS) puis colonisées par LF82 (AIEC) ou un *E. coli commensal* (K12). La réponse immunitaire a été étudiée au niveau local (intestin) et systémique (sang, rate).

### Résultats :

Les animaux *Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>* présentent une augmentation de la concentration d'IgA fécale et sanguine sous régime standard. Les animaux *Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>* sous régime standard et colonisés par LF82 présentent une augmentation de TNF $\alpha$  dans l'iléon. Enfin, une stimulation *in vitro* par un lysat bactérien de LF82 induit une augmentation de la sécrétion de TNF $\alpha$  par les splénocytes des animaux *Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>* et infectés par LF82.

**Conclusion** : Ces résultats préliminaires, montrent que le facteur génétique *Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>* induit une augmentation de la production d'IgA fécale et systémique sous régime standard. La combinaison *Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>*, régime standard, colonisation LF82 induit une inflammation iléale alors que la combinaison *Atg16l1<sup>ΔIEC</sup>*, régime HF/HS, colonisation par LF82 augmente l'inflammation systémique. Ces résultats suggèrent que la synergie des facteurs génétiques et environnementaux pourrait induire non seulement une inflammation intestinale mais aussi systémique.

**Mot-clé** : Maladie de Crohn, AIEC, *Atg16l1*, régime occidental, cellule de l'épithélium intestinal

## RÉSUMÉ CECED 2024

**Titre** : Développement d'un modèle inflammatoire d'intestins sur puce pour étudier l'impact des métabolites microbiens intestinaux

**Auteurs** : Khadija Oukacha<sup>1,2</sup>, Raphaëlle Liquard<sup>1</sup>, Véronique Carrière<sup>1</sup>, Sophie Thenet<sup>1,3</sup> Philippe Seksik<sup>1</sup>, Nathalie Sauvonnet<sup>2</sup>

**Nom et adresse du laboratoire** : <sup>1</sup>Centre de Recherche Saint-Antoine UMRS 938, Équipe Seksik/Sokol « Microbiote, Intestin et Inflammation », 27 rue Chaligny, 75012 Paris ; <sup>2</sup> Groupe Homéostasie tissulaire, plateforme Biomatériaux et Microfluidique, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, Paris ; <sup>3</sup> EPHE, Université PSL, F-75014 Paris

**Résumé** : (environ 250 mots)

L'intestin humain forme une barrière constituée de plusieurs types cellulaires et organisée selon une architecture complexe. La fonction barrière de l'intestin est perturbée chez les patients souffrant de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). En effet, ces patients présentent une perte de l'intégrité de la barrière épithéliale et une activation excessive du système immunitaire, ainsi qu'une altération du microbiote.

La muqueuse intestinale est constamment soumise à deux forces mécaniques : le cisaillement, induit par l'écoulement des fluides, et l'étirement, causé par le mouvement péristaltique. Ces forces sont nécessaires au maintien de l'homéostasie des tissus. Notre objectif est de développer un modèle d'inflammation intestinale-sur-puce, en utilisant la technologie des « *organ-on-chip* » (OOC), qui récapitule toutes les caractéristiques de l'interface intestinale épithéliale stimulée mécaniquement et en 3D. Ce modèle sera composé de cellules épithéliales intestinales dans le canal supérieur de la puce et des cellules endothéliales et immunitaires (PBMCs) dans le canal inférieur. Il permettra de tester les effets anti-inflammatoires de certains métabolites dans un système intégrant les différents acteurs de la pathologie.

Dans une première étape, nous avons analysé les effets d'une molécule bénéfique pour la barrière sur les cellules épithéliales intestinales Caco-2/TC7 cultivées en OOC. La 3-oxo-C12:2-HSL est une molécule du *quorum sensing* bactérien de la famille des N-acyl-homosérine-lactones (AHL) dont nous avons auparavant démontré les effets protecteurs sur les jonctions serrées en conditions inflammatoires. Nos résultats préliminaires montrent que la 3-oxo-C12:2-HSL préserve la barrière épithéliale dans les OOC en diminuant l'hyperperméabilité induite par les cytokines interféron- $\gamma$  et TNF- $\alpha$  et en réduisant la sécrétion des chimiokines IL-8 et MCP-1.

**Mots clés** : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, inflammation, barrière intestinale, recrutement des cellules immunitaires, quorum sensing, organ-on-chip, puce microfluidique

## **Développent des modèles *in vitro* d'épithélium intestinale humain pour étudier les mécanismes d'interaction hôte-microbiote.**

Ludovica Marinelli (1), Pieter De Clercq (1), Rita Paola Leblans (1), Tim Vanuytsel (2,3), Tom Van de Wiele (1)

1 Center for Microbial Ecology and Technology (CMET), Department of Biotechnology, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Coupure Links 653, 9000 Ghent, Belgium.

2 Department of Gastroenterology and Hepatology, University Hospitals Leuven, 3000 Leuven, Belgium.

3 Translational Research in Gastrointestinal Disorders (TARGID), KU Leuven, 3000 Leuven, Belgium.

Le dialogue hôte-microbiote intestinale joue un rôle crucial dans plusieurs aspects de la santé. Dans ce contexte, nous visons à améliorer les connaissances mécanistiques à travers le développement des modèles épithéliales polyvalents. Des modèles *in vitro* de co-culture d'au moins trois à cinq lignées cellulaires humaines sont en cours de développement pour simuler l'épithélium intestinal humain et en cours de validation pour leur réponses a la modulation de (i) l'intégrité et perméabilité de la barrière, (ii) la production de mucus, (iii) les réponses immunitaires et (iv) l'activité entéroendocrinienne. Un premier modèle comprenant des lignées cellulaires de type entérocytes, gobelets et entéroendocrines différenciées, a montré une réactivité à la modulation de l'intégrité et de la perméabilité épithéliales lors d'une stimulation avec le facteur de nécrose tumorale alpha et les acides gras à chaîne courte. D'autres optimisations ont inclus l'incorporation d'une lignée cellulaire différenciée de type macrophage sur le côté basal de l'insert, pour reproduire certaines fonctions immunomodulatrices épithéliales. De plus, pour étudier l'axe intestin-foie et l'interaction hôte-bactérie-sels biliaries, le modèle a été couplé à une lignée cellulaire de type hépatocyte. Enfin, pour améliorer la morphologie et la polarisation épithéliales, une optimisation récente a impliquée l'ensemencement du model de triple co-culture au-dessus d'une lignée cellulaire de type fibroblaste.

Ces différents modèles seront ensuite stimulés avec des communautés microbiennes complexes issues d'échantillons *in vivo* et/ou d'un simulateur *in vitro* d'écologie intestinale humaine (SHIME), pour décrypter les mécanismes cellulaires de l'interaction hôte-bactérie, dans le contexte de cachexie cancéreuse et de syndrome de l'intestin court.

**Titre du projet :** Inflammation et dysbiose intestinale dans la spondylarthrite : Recherche de biomarqueurs théranostiques et amélioration de la compréhension des mécanismes impliqués par une approche basée sur les organoïdes intestinaux.

**Auteurs :** SOUDY Ronan<sup>1</sup>, NATALELLO Gerlando<sup>1</sup>, YEMMOU Rhyzlène<sup>1</sup>, BREBAN Maxime<sup>1,3</sup>, CHERBUY Claire<sup>2</sup>, BAZIN Thomas<sup>1,4</sup>

**Nom et adresse des laboratoires :**

(1) Inflammation chronique et système immunitaire, UMR 1173 – Infection et inflammation (2I) dirigée par Maxime BREBAN ; UFR Simone Veil, 2 Avenue de la Source de la Bièvre, 78180 Montigny le Bretonneux.

(2) ProbiHôte : Interactions des micro-organismes commensaux et probiotiques avec l'hôte, UMR 1319 - pôle Ecosystèmes alimentaires et digestifs dirigé par Philippe LANGELLA ; Institut Micalis, INRAE, Domaine de Vilvert, Bâtiment 440/442, 78350 Jouy-en-Josas.

(3) Service de rhumatologie, hôpital Ambroise-Paré (Boulogne-Billancourt) dirigé par le Pr Maxime BREBAN ; 9 avenue Charles-de-Gaulle, 92100 Boulogne-Billancourt.

(4) Service d'hépatogastroentérologie, hôpital Ambroise-Paré (Boulogne-Billancourt) dirigé par le Pr Dominique LAMARQUE ; 9 avenue Charles-de-Gaulle, 92100 Boulogne-Billancourt.

**Résumé (250 mots) :** La spondylarthrite (SpA) est un groupe de pathologies inflammatoires rhumatismales d'étiopathogénie multifactorielle. Cliniquement, les SpA se manifestent par une inflammation articulaire, à la fois au niveau axial (colonne vertébrale et articulations sacro-iliaques) et au niveau périphérique (genoux, hanches, talons), et également extra-articulaire. Elles sont en particulier associées au niveau clinique et physiopathologique aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Nous avons récemment mis en évidence l'existence d'une dysbiose du microbiote intestinal des patients atteints de SpA, caractérisée par l'augmentation de l'abondance d'une bactérie : *Ruminococcus gnavus*, positivement corrélée avec la sévérité de la maladie, sans pour autant déterminer si elle est la cause ou la conséquence de l'apparition de la SpA. L'objectif global du projet proposé est d'améliorer la compréhension des interactions entre l'épithélium digestif et *R. gnavus* dans la physiopathologie de la SpA, à partir d'un modèle d'organoïdes intestinaux. Les organoïdes sont des modèles cellulaires tridimensionnels, issus de cellules souches adultes, capables de s'auto-renouveler et de s'auto-organiser, tout en reproduisant les caractéristiques structurales et fonctionnelles de l'épithélium digestif. Nous avons obtenu des organoïdes intestinaux à partir de biopsies coliques de patients atteints de SpA, de patients atteints de MICI et de témoins sains. Nous étudions les effets de différents composés bactériens ainsi que de bactéries d'intérêt sur ces organoïdes, à l'aide de différentes techniques incluant l'étude de la perméabilité intestinale, le dosage de cytokines inflammatoires et la transcriptomique. A terme, ce travail permettra d'acquérir des connaissances sur le rôle de bactéries du microbiote dans la SpA.

**Mots-clés (5 max) :** Microbiote – Inflammation – Spondylarthrite – Organoïdes – Epithélium digestif

## Rôle d'ALPK1 dans l'inflammation intestinale

Camille Le Gléau<sup>1</sup>, Laurène Salesses<sup>1</sup>, Amandine Lashermes<sup>1</sup>, Julie Cadiou<sup>1</sup>, Hervé Blottière<sup>1,2</sup>, Véronique Douard<sup>1</sup>, Pierre Larraufie<sup>1</sup>, Nicolas Lapaque<sup>1</sup>

1- Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, Jouy-en-Josas, France. 2- Université Paris-Saclay, INRAE, Metagenopolis, Jouy-en-Josas, France.

Le maintien de l'homéostasie intestinale dépend d'une interaction étroitement régulée entre le microbiote intestinal, les cellules épithéliales intestinales (CEI) et les cellules immunitaires de la muqueuse. Pour cela, les récepteurs de l'immunité innée (PRR) stimulés par le microbiote déclenchent une réponse physiologique protectrice en éliminant les agents pathogènes, en réparant les tissus endommagés, en augmentant les fonctions de barrière épithéliale et en favorisant la différenciation et la prolifération des CEI, ainsi que la maturation des cellules immunitaires. Ces récepteurs sont considérés comme des régulateurs clés de l'homéostasie intestinale ce qui leur confère un rôle essentiel dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). ALPK1 a récemment été décrit comme un nouveau PRR reconnaissant l'ADP-heptose bactérien et activant NF- $\kappa$ B. De nombreuses avancées ont été réalisées dans la compréhension du rôle du microbiote et des PRR dans l'homéostasie intestinale et leur importance dans des conditions physiopathologiques telles que les MICI, cependant, aucune étude n'a évalué le rôle d'ALPK1 dans ce contexte. Afin de comprendre le rôle d'ALPK1 dans les MICI, nous avons soumis des souris déficientes pour ce récepteur à une colite induite au Dextran sulfate sodium. Nous avons montré que la délétion de ce gène entraîne une susceptibilité plus importante des animaux à la colite. De plus, la stimulation d'ALPK1 par son ligand chez la souris a un impact sur l'intégrité de la muqueuse intestinale lors de l'induction de la colite. L'ensemble de ses premiers éléments suggèrent un rôle d'ALPK1 dans la régulation de la réponse inflammatoire intestinale.

Mots clés : PRR - ALPK1 - MICI - homéostasie intestinale

**Titre** : Le Filgotinib améliore le traitement de la colite en favorisant le renouvellement d'un épithélium intestinal fonctionnel

**Auteurs** : Arthur Mauduit, Muriel Quaranta-Nicaise, Emmanuel Mas et Frédéric Barreau.

**Laboratoire** : Institut de Recherche en Santé Digestive, 105 avenue de Casselardit, 31300 Toulouse

**Mots clés** : cellules souches intestinales, perméabilité, inflammation, épithélium intestinal

**Financement** : Cette étude a été financée par Galapagos.

La maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique sont des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) caractérisées par une alternance de phases de poussées inflammatoires et de rémission. Dans les MICI, l'homéostasie de l'épithélium intestinal est perturbée (altération de la perméabilité et du renouvellement de l'épithélium), compromettant la protection de l'organisme vis-à-vis du contenu luminal. Chez l'homme, l'épithélium intestinal est renouvelé tous les 5 à 7 jours à partir des cellules souches intestinales (CSI).

Dans le traitement des MICI, de nouvelles biothérapies comme les inhibiteurs de la « Janus Kinase 1 (Filgotinib) » ont récemment été développées. Bien que les propriétés anti-inflammatoires du Filgotinib aient été décrites, aucune donnée concernant son impact sur l'homéostasie de l'épithélium intestinal est disponible. L'objectif de notre étude est d'évaluer si le Filgotinib 1) a un rôle protecteur sur les CSI et, 2) favorise leur différenciation pour régénérer un épithélium fonctionnel, chez des souris exposées à du dextran sulfate sodium (DSS). Pour étudier les CSI, nous avons utilisé la culture d'organoïdes.

Nos résultats démontrent que le Filgotinib diminuait la sévérité de la maladie induite par le DSS (poids, apparence, consistance des selles et saignements rectaux) et l'inflammation macroscopique (réduction de l'épaisseur du côlon, augmentation de sa longueur et diminution des œdèmes). Les données obtenues montraient également la capacité du Filgotinib à restaurer une perméabilité intestinale normale et à améliorer la survie et la différenciation des CSI (modèle organoïde et expression de marqueurs).

En conclusion, nos résultats montrent l'efficacité du Filgotinib à améliorer la capacité des CSI à régénérer un épithélium fonctionnel.

## **Niche stromale et physiologie des cellules souches coliques : rôle du récepteur des hormones thyroïdiennes TR $\alpha$ 1 dans les interactions épithélium-mésenchyme**

Mathieu Reslinger, Bastien Launay et Michelina Plateroti  
Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire. 1 rue Laurent Fries,  
67404 Illkirch

Les hormones thyroïdiennes (HT) contrôlent le développement et l'homéostasie intestinale. Le paradigme est représenté par la métamorphose des amphibiens, où ils sont responsables du remodelage intestinal et de l'émergence des cellules souches. Les HT agissent via des récepteurs nucléaires, les TR, qui sont des facteurs de transcription dont l'action est modulée par l'hormone T3. Les travaux précédents de notre équipe ont montré l'importance des HT et du récepteur TR $\alpha$ 1 dans le développement et l'homéostasie intestinale ainsi que dans l'induction tumorale via un réseau complexe de voies signalétiques, incluant WNT, NOTCH et BMP, impliquées dans le dialogue entre cellules épithéliales et cellules stromales. Si l'importance de cet échange de signaux dépendant des HT/TR est bien caractérisée lors de la métamorphose des amphibiens, il demeure encore peu défini chez les mammifères.

Dans ce contexte, le but de notre projet est d'analyser l'impact de HT/TR $\alpha$ 1 sur un dialogue similaire dans l'intestin des mammifères en condition normale et dans les cancers. Nous utilisons des approches dans l'animal *in vivo* et en co-culture *ex vivo* couplées à des études de biologie cellulaire et moléculaire pour définir les mécanismes sous-jacents. De plus, nous mettons au point une méthode d'imagerie 3D pour analyser sur des coupes épaisses les cellules stromales des cryptes coliques entières.

**Mots clés** : Cellules stromales, Cellules épithéliales, Hormones thyroïdiennes, Récepteur nucléaire des hormones thyroïdiennes

## **Caractérisation du métabolisme des cellules souches intestinales et de leur épigénome: implication du facteur de transcription Ppar $\beta$**

*Institut Cochin, Inserm U1016, Equipe autorenewement et tumorigénèse intestinale, 24 rue du faubourg Saint Jacques, 75014 Paris*

Gwendoline Grasset, Béatrice Romagnolo, Pascale Bossard

Le cancer colorectal (CRC) constitue un problème majeur de santé publique, étant la deuxième cause de décès par cancer en France. Le CRC dérive de la transformation des cellules souches intestinales (CSI). Dans l'organisme adulte, les cellules souches sont caractérisées par un métabolisme spécifique, généralement différent de leur progénie. Le programme métabolique des cellules souches n'est pas seulement une conséquence de leur microenvironnement, mais participe activement à leur homéostasie en contrôlant leur engagement vers l'auto-renouvellement ou la différenciation. Ainsi une alimentation hyperlipidique (HL) augmente l'activité des CSI et les rend permissives pour la transformation tumorale. Utilisant différents modèles murins, nous avons caractérisé le métabolisme des CSI sous différentes situations nutritionnelles, et avons pu démontrer que ces cellules oxydaient préférentiellement les acides gras, que cette activité était modulée par l'environnement nutritionnel et était dépendante du facteur de transcription Ppar $\beta$ , un acteur majeur du catabolisme des lipides. En dehors de sa fonction princeps de fournir énergie et macromolécules nécessaires à la fonction cellulaire, le métabolisme va aussi générer des métabolites intervenant dans des modifications post-traductionnelles de protéines ou de l'ADN, contrôlant leurs activités respectives. Dans le cas de modifications d'histones telles que des méthylations ou des acétylations ces altérations vont avoir un impact majeur sur l'accessibilité de la chromatine et l'activité transcriptionnelle, conduisant à des modulations d'expression de programmes géniques sous le contrôle direct d'activités métaboliques. Nous avons alors pu démontrer que dans l'épithélium intestinal l'acétylation des histones était modulée par la nutrition et que cette modulation était dépendante de l'oxydation lipidique contrôlée par Ppar $\beta$ .

**Mots Clés : Nutrition Métabolisme Histones Ppar $\beta$  Intestin**

## La mutation BRAF<sup>V600E</sup> oriente le phénotype des cellules cancéreuses du colon à travers la régulation de FTO

Stéphanie MATEUS<sup>1</sup>, Sébastien RELIER<sup>2</sup>, Amandine BASTIDE<sup>1</sup>, Julie PANNEQUIN<sup>2</sup>, Chris PLANQUE<sup>1</sup>, Alexandre DAVID<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, Université de Montpellier, ICM, INSERM, Montpellier, France

<sup>2</sup> Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, CNRS, INSERM, Montpellier, France

### Résumé

Les cellules souches cancéreuses (CSC) représentent une fraction minoritaire des cellules tumorales : elles peuvent s'auto-renouveler, résister aux chimiothérapies, et sont impliquées dans le développement métastatique. Comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine des capacités inhérentes aux CSC est donc indispensable pour mettre en place des stratégies thérapeutiques adaptées.

Lors d'une étude précédente<sup>1</sup>, nous avons montré que ces capacités souches étaient corrélées à une diminution de l'activité de la *Fat mass and Obesity-associated protein* (FTO) dans le cancer colorectal. De manière remarquable, l'expression de FTO est significativement diminuée dans les lignées de colon portant la mutation BRAF<sup>V600E</sup>. Cette mutation activatrice de la voie des MAPK participe à la progression et à l'agressivité tumorales : les patients portant cette mutation ne répondent pas aux thérapies conventionnelles et développent plus fréquemment des métastases. Nous avons donc émis l'hypothèse que la dégradation de FTO participait au phénotype agressif associé à la mutation BRAF<sup>V600E</sup>.

Nos résultats préliminaires suggèrent qu'une voie de signalisation non canonique de la voie BRAF conduit à la dégradation de FTO par autophagie. Nos objectifs sont maintenant d'identifier les acteurs de cette voie de signalisation et de comprendre les mécanismes post-traductionnels dirigeant FTO vers cette dégradation.

Ces travaux pourraient conduire à une meilleure compréhension des cancers BRAF<sup>V600E</sup> et déterminer si la restauration de l'expression de FTO pourrait contrer le phénotype souche qui y est associé.

---

<sup>1</sup> Relier, S., Ripoll, J., Guilloit, H. et al. FTO-mediated cytoplasmic m6Am demethylation adjusts stem-like properties in colorectal cancer cell. Nat Commun 12, 1716 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21758-4>

Title: NEW FINDINGS IN THE REGULATION OF INTESTINAL GLUCOSE ABSORPTION BY DIETARY PROTEINS

Author's: Belurier, Allane (France)<sup>1</sup>; Dugardin, Camille (France)<sup>1</sup>; Schroyen, Martine (Belgium)<sup>2</sup>; Lestavel, Sophie (France)<sup>3</sup>; Briand, Olivier (France)<sup>3</sup>; Cudennec, Benoit (France)<sup>1</sup>

Affiliation's: 1 - University of Lille, UMRt 1158 BioEcoAgro, 59000 Lille, France.; 2 - Gembloux Agro-Bio Tech, GxABT department, University of Liège, Belgium; 3 - University of Lille, Inserm, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011-EGID, 59000 Lille, France

Keyword's: dietary proteins, intestinal glucose absorption, PepT1, SGLT1, GLUT2.

### **Abstract**

**Purpose:** Numerous studies have established the positive impact of high-protein diets on glucose homeostasis. However, the specific mechanisms responsible for this effect remain unclear. Preliminary investigations indicate that different digested proteins enhance glucose tolerance while reducing glucose absorption and the activity of the glucose transporter GLUT2. We hypothesise that a “cross-talk” between the oligopeptide carrier PepT1 and glucose transporters GLUT2 and SGLT1 is at the origin of this regulation. This work thus investigated the cellular and molecular mechanisms regulating glucose absorption induced by digested proteins from various food sources. **Method:** Fish gelatin, caseins and pea protein preparations were subjected to digestion using the INFOGEST static gastrointestinal digestion protocol. Digested proteins were subsequently incubated with glucose (25 mM) in an intestinal barrier model (Caco-2/HT29-MTX coculture) with or without a PepT1 inhibitor. RT-qPCR, western blot and immunofluorescence evaluated the mRNA and protein expression of SGLT1 and GLUT2. **Results:** Digested proteins reduced the expression of GLUT2 mRNA and SGLT1 protein expression at the apical side of enterocytes. These findings further support the notion that peptides and amino acids derived from digested proteins play a crucial role in regulating glucose homeostasis, emphasising their significance in intestinal glucose absorption.

### **References**

1-Dugardin C, et al., Front Nutr. 2022 Jan 19;8:769773.

### **Acknowledgements**

This research was funded in the framework of the CPER BiHautsEco de France research program, which is financed by the European Union, the French State, and the French Region of Hauts-de-France.

## **La transcriptomique en cellule unique révèle les processus de maturation induits dans chaque type de cellule épithéliale intestinale lors de l'introduction de l'alimentation solide**

Tania Malonga<sup>1,2</sup>, Christelle Knudsen<sup>1</sup>, Emeline Lhuillier<sup>3</sup>, Patrick Aymard<sup>1</sup>, Elodie Riant<sup>4</sup>, Cedric Cabau<sup>5</sup>, Nathalie Vialaneix<sup>2</sup>, Martin Beaumont<sup>1</sup>

1 - GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Castanet-Tolosan, France.

2 - Université de Toulouse, INRAE, UR MIAT, 31326, Castanet-Tolosan, France.

3 - GeT-Sante, Plateforme Génome et Transcriptome, GenoToul, Toulouse, France.

4 – Plateau de cytométrie I2MC, INSERM, TRI-GenoToul, Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

5 - Sigenae, GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, F-31326, Castanet-Tolosan, France.

**Introduction :** La maturation de l'épithélium intestinal lors de la transition alimentaire du sevrage a des conséquences durables pour la fonction de barrière de l'intestin. Le but de ce travail était d'identifier les modifications transcriptomiques induites dans chaque type cellulaire de l'épithélium intestinal lors de l'introduction de l'alimentation solide.

**Matériel et méthodes :** Deux groupes de quatre lapereaux ont été allaités jusqu'à 25 jours d'âge et ont eu accès ou non à un aliment solide à partir du 12<sup>e</sup> jour. Le transcriptome en cellule unique de l'épithélium du caecum a été étudié à 25 jours. Les données ont été analysées avec le logiciel Cell Ranger et avec le package R Seurat.

**Résultats :** L'introduction de l'alimentation solide a fortement modifié l'expression des gènes dans l'épithélium intestinal. Certains effets étaient observés dans la majorité des types cellulaires, tels que l'augmentation de l'expression de gènes impliqués dans les défenses de l'épithélium (PIGR, ISG15) ou dans le métabolisme de l'acide rétinolique (ALDH1A1). Les modifications transcriptomiques étaient particulièrement marquées dans les cellules absorbantes et suggèrent notamment une régulation de la respiration cellulaire et du métabolisme lipidique. L'alimentation solide a également modifié le transcriptome de la sous-population de cellules absorbantes matures BEST4<sup>+</sup>, récemment découverte chez l'homme, absente chez la souris, et décrite ici pour la première fois chez le lapin. Parmi les régulations observées spécifiquement dans ces cellules BEST4<sup>+</sup>, l'ingestion d'aliments solides a notamment augmenté l'expression de l'enzyme pro-oxydante DUOX2 et réduit l'expression de la cytokine IL33.

**Conclusion :** L'identification des modifications transcriptomiques induites dans chaque type de cellule épithéliale lors de l'introduction de l'alimentation permettra de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la maturation de l'intestin au début de la vie.

**Mots clés :** épithélium intestinal, cellules BEST4<sup>+</sup>, sevrage, transcriptomique en cellule unique

## ILC3s drive gut adaptability triggered by nutritional changes

Emelyne Lécuyer<sup>1,2</sup>, Fabian Guendel-Rojas<sup>2</sup>, Sascha Cording<sup>2</sup>, Sophie Dulauroy<sup>2</sup>, François Déjardin<sup>2</sup>, Jasna Medvedovic<sup>2</sup>, Marion Rincel<sup>2</sup>, Helena Moguel-Houssin<sup>2</sup>, Bernadette Polomack<sup>2</sup>, Giulia Nigro<sup>2</sup>, Benoit Chassaing<sup>3</sup>, Gérard Eberl<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Physiopathology of Nutritional Adaptations, INRAE UMR1280, Nantes Université, Nantes, France

<sup>2</sup> Microenvironment and Immunity Unit, INSERM U1224, Institut Pasteur, Paris, France

<sup>3</sup> Mucosal Microbiota in Chronic Inflammatory Diseases, INSERM U1016, CNRS UMR 8104, Université de Paris, Paris, France.

The intestine faces multiple perturbations occurring daily upon food ingestion. The complexity of such routine but vital activity relies on the difficult and concomitant tasks ensuring nutrient processing, digestion and absorption, while maintaining stable relationship with the microbial inhabitant, the gut microbiota. In order to achieve these different functions, the intestine relies heavily on a particular interplay between the epithelial cells lining the luminal part of the gut barrier and immune effector cells located below, into the mucosae. Among immune effectors, innate lymphoid cells type 3 (ILC3s) hold a critical position ensuring defense against pathogens as well as maintenance and repair of the intestinal barrier. Our work explores how ILC3s respond to sudden nutritional changes with the goal of restoring the integrity of the intestinal barrier and regulating disturbances caused by such challenges, particularly with regard to the microbiota. Using our unique mouse model for the inducible depletion of ILC3s, we show that the loss in ILC3s during periods of food deprivation significantly impairs the intestinal barrier to face perturbations following nutritional challenges, which leads to systemic inflammation and severe metabolic dysfunctions.

We unravel a new pathway by which ILC3s mediate acute epithelial cell adaptation to control inflammation in the post-meal period, positioning these cells as central integrators of the host nutritional status.

Keywords: ILC3s, intestinal barrier, microbiota, epithelium, nutritional state

### Role of Primary cilia in colon homeostasis and pathology

**Authors:** Maya Saredine, Valérie Pinet, Michael Hahne

**Name and address of laboratory:**

Laboratoire Inflammation et Cancer, Equipe de Michael Hahne.  
Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier  
CNRS-UMR 5535  
1919 Route de Mende  
34293 Montpellier- Cedex 5 - FRANCE

Primary cilia (PC) are antenna-like sensory structures extending from most mammalian cell surfaces, composed of tubulin dimers subjected to post-translational modifications. PC regulate different signaling pathways. In the colon, PC are mainly present in fibroblasts. Our group has shown that a reduction in PC number in colonic *Co/VI*+ fibroblasts increased the susceptibility of mice to colon carcinogenesis. What are the mechanisms regulated by PC in colonic fibroblasts? To address this question, we generated a mouse model (*Ift88<sup>ff</sup>-Co/VI<sup>Cre</sup>-ROSA<sup>mTmG</sup>*) with a conditional knock-out for *Ift88*, an essential gene for PC maintenance, targeting a subset of fibroblasts (*Co/VI*+ fibroblasts) coupled to ROSA<sup>mTmG</sup> reporter gene. To describe the molecular alterations regulated by PC during tumor progression, we are presently preparing samples from colons of PC-deficient and control mice for single-nucleus RNA sequencing. Additionally, I analyze primary fibroblast cultures from mouse colons, mimicking, upon starvation, the *in vivo* PC-expressing fibroblast proportion in colon tissue, thus allowing the investigation of PC biology. Analysis of primary fibroblast cultures revealed a yet unappreciated role of pyruvate in modulating the formation and length of PC. Briefly, we found that pyruvate increases PC length and, upon high concentrations, enhances the number of PC-expressing fibroblasts, in parallel with an increase of acetylation level of tubulin in PC. Our results suggest a potential role of pyruvate in regulating the biology of PC. In addition, the single-nucleus RNA sequencing analysis will allow us to identify the signaling pathways regulated by PC in colonic *Co/VI*+ fibroblasts in the presence or not of pyruvate.

**Keywords:** Primary cilia, Fibroblasts, Colon, Carcinogenesis, Pyruvate.

## **Effets anti-tumoraux des orexines et des antagonistes du récepteur OX1R dans les cancers coliques : rôle de la conformation de la protéine Gq.**

Valérie Gratio<sup>1,2</sup>, Paulina Dragan<sup>3</sup>, Laurine Garcia<sup>1</sup>, Loredana Saveanu<sup>4</sup>, Pascal Nicole<sup>1</sup>, Thierry Voisin<sup>1</sup>, Dorota Latek<sup>3</sup>, Alain Couvineau<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Equipe « De l'inflammation au cancer dans les maladies digestives », <sup>2</sup>plateforme de cytométrie en flux CytoCRI, <sup>3</sup>Faculté de chimie, université de Varsovie, <sup>4</sup>équipe « Présentation de l'antigène par les cellules dendritiques aux cellules T », INSERM UMR1149, Centre de Recherche sur l'inflammation (CRI), Faculté de Médecine Site Bichat, Université de Paris Cité, 75018 Paris, France.

Les orexines A et B (OxA et OxB) sont des neuropeptides hypothalamiques qui ont des effets dans la régulation du sommeil en activant leurs récepteurs OX1R et OX2R *via* la voie calcique dépendante de la PLC. OX1R est exprimé de façon ectopique dans les cancers digestifs (foie, côlon, pancréas) où son activation par les orexines induit une apoptose mitochondriale dépendante de SRC et SHP2 conduisant à un effet anti-tumoral. Des antagonistes de la voie calcique, comme l'almorexant ou le lemborexant ont été développés pour traiter l'insomnie. Or ils sont agonistes de la voie apoptotique dans les cellules cancéreuses. L'objectif de ce travail a été de comprendre comment des antagonistes de la voie calcique peuvent être agonistes de la voie apoptotique en nous intéressant à l'internalisation du récepteur grâce à l'utilisation de la cytométrie en flux et en images. Nous avons montré qu'OxA induit l'internalisation et le trafic intracellulaire d'OX1R alors qu'aucune internalisation d'OX1R n'a été observée après activation par les antagonistes. Cette internalisation d'OX1R implique la protéine  $\beta$ -arrestine 2, qui n'a aucun impact sur l'induction de la voie apoptotique. De plus, seule la protéine Gq est cruciale pour l'internalisation du récepteur OX1R et pour l'induction des deux voies de signalisation par ses ligands (aucune autre protéine G n'est impliquée). Néanmoins, grâce à des techniques de BRET et de simulation de dynamique moléculaire, la protéine Gq hétérotrimérique semble présenter des réarrangements structuraux permettant le recrutement au niveau d'OX1R des protéines impliquées dans le déclenchement de l'apoptose après activation d'OX1R par les antagonistes. Ces résultats démontrent clairement comment un antagoniste d'un récepteur couplé aux protéines G peut être un « agoniste partiel » ne permettant le déclenchement que d'une des deux voies de signalisation du récepteur. Ces travaux apportent aussi un nouvel éclairage sur les mécanismes d'activation des voies de signalisation induites par OX1R permettant d'envisager le développement de molécules à visée thérapeutique ciblant ce récepteur dans les cancers digestifs.

**Mots clefs :** Récepteurs aux orexines, protéine Gq, mobilisation du calcium intracellulaire, apoptose mitochondriale, cancers digestifs.

### **Caractérisation « single cell » des tumeurs neuroendocrines intestinales**

MOULLÉ Pauline – PATTE Céline – POMMIER Roxane – WALTER Thomas – GIBERT Benjamin

Gastroenterology and technologies for health - Centre de Recherche en cancérologie de Lyon (CRCL) 28 Rue Laënnec, 69008 Lyon

Les **tumeurs neuroendocrines de l'intestin grêle** (TNEi) sont des tumeurs intestinales rares issues de cellules entéroendocrines qui régulent normalement la digestion. Bien que peu fréquentes, leur incidence augmente grâce à un meilleur diagnostic, ce qui favorise la recherche sur leur origine et leur traitement. À ce jour, les TNEi sont considérées comme une entité unique et traitées cliniquement comme telles. Nous avons réalisé une collection biologique regroupant des échantillons mais aussi les données cliniques des patients. Nous avons effectué une étude dite de « **single cell** » afin de comprendre la composition du **microenvironnement tumoral** qui n'a pour l'heure pas été décrit. Nous avons pu identifier différentes populations qui pourraient jouer un rôle crucial dans la pathologie.

## Étude du rôle et du mode d'action de la cadhérine atypique CDHR5 dans l'épithélium intestinal via un modèle *ex vivo* d'organoïdes

Céline SIEFFERT<sup>1</sup>, Ourania VLAMI<sup>1</sup>, Jean-Noël FREUND<sup>1</sup>, Isabelle DULUC<sup>1</sup>, Isabelle GROSS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire HERIIT, UMR 1260 INSERM-Université de Strasbourg, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, 1 rue Eugène Boeckel, 67084 Strasbourg

**Introduction** : CDHR5 diffère des cadhérines classiques par sa structure et sa localisation à l'apex des entérocytes. Sa perte d'expression dans l'épithélium intestinal est associée à une réduction de la survie des patients atteints de cancer colorectal et favorise la tumorigenèse chez la souris, mais les mécanismes sous-jacents restent mal compris.

**Matériel et Méthodes** : Les expériences ont été réalisées à l'aide d'un modèle d'organoïdes intestinaux (OI) provenant de souris *Cdhr5<sup>WT</sup>* et *Cdhr5<sup>KO</sup>*. La formation et le développement des OI ont été suivis par vidéomicroscopie et le taux de prolifération a été évalué par test EdU. L'expression des gènes a été étudiée par RT-qPCR et RNA-SEQ. La localisation de divers marqueurs pour les cellules souches / progéniteurs (Olfm4, CD44), les cellules différenciées (Sis, Lyz1, ChgA, Muc2) et les jonctions intercellulaires (E-Cadhérine, ZO-1), a été examinée par immunofluorescence.

**Résultats et Conclusions** : Nous avons constaté que la perte de CDHR5 accélérât et augmentait le bourgeonnement des OI. En outre, la perte de CDHR5 est corrélée à une augmentation des zones de prolifération et à des taux de prolifération plus élevés. En parallèle, nous avons observé des modifications des marqueurs de différenciation cellulaire. Au niveau moléculaire, la perte de CDHR5 est corrélée à la dérégulation de nombreux gènes impliqués dans la prolifération et la différenciation cellulaire.

Ces données indiquent que CDHR5 joue un rôle clé dans la destinée des cellules épithéliales intestinales. Elles suggèrent que CDHR5 s'oppose activement à la plasticité cellulaire et que sa perte augmente la dérégulation de voies de signalisation oncogéniques, favorisant ainsi l'émergence de cellules tumorales immatures ayant des propriétés de cellules souches ou de progéniteurs.

**Mots clés:** Cadhérine, Cancer colorectal, Epithelium intestinal, Organoïdes, Stemness

## **Deciphering SRC-Like Adaptor Protein (SLAP) functions in intestinal homeostasis and tumorigenesis**

Dana Naim<sup>1</sup>, Julie N'Guyen<sup>1</sup>, Valérie Simon<sup>1</sup>, Zeinab.Homayed<sup>2</sup>, Cécile Naudin<sup>1</sup>, Michael Hahne<sup>3</sup>, Audrey Sirvent<sup>1</sup> & Serge Roche<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CRBM, CNRS, Univ. Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> IGF, CNRS, Univ. Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> IGMM, CNRS, Univ. Montpellier, Montpellier, France

The tyrosine kinase and signaling protein, SRC, is an important player of tumorigenesis and metastasis, found deregulated in 80% of colorectal cancer (CRC). SRC deregulation induces intestinal cancer stem cell proliferation and dissemination, it is also a marker of poor prognosis in patients and a potent driver of metastasis in CRC. While the tumor-promoting role of SRC in CRC is well-defined, the underlying associated deregulation mechanisms are not fully understood. Interestingly, we identified one important mechanism controlling the SRC tumor activity in CRC which implicates the SRC-like Adaptor Protein SLAP. In normal conditions, SLAP is gradiently expressed in the crypts of the intestine, with the highest expression level in the differentiated part, and it is inversely correlated to the SRC and Wnt activities. Interestingly, we found that SLAP is frequently down regulated in CRC and displays important tumor suppressive functions via controlling the oncogenic activity of SRC. In line with this, SLAP overexpression suppresses cell tumorigenicity, tumor-initiating abilities and invasiveness, whereas SLAP silencing leads to an increased tumor growth and liver metastasis as well as well as cancer stem cells properties. To further investigate the pathophysiological functions of SLAP in a more integrated system, we developed total constitutive and intestine specific conditional SLAP knockout (KO) mouse models. I observed, that the KO of SLAP increases the colonic epithelium thickness, the intestinal stem cell marker LGR5, as well as the formation of colon-derived organoids *ex-vivo*. Overall, these data suggest an important function of SLAP in intestinal homeostasis and tumorigenesis.

*Keywords: colorectal cancer, tyrosine kinase signaling, colonic epithelium and stem cell properties.*

Présentation orale au CECED 2024

## **Interactions paracrines entre les cellules tumorales circulantes colorectales (CTC) et les fibroblastes associés au cancer (FAC)**

**Jihane Boubaker-Vitre**<sup>1-2</sup>, Guillaume Belthier<sup>1</sup>, Nolwenn Barbier<sup>1</sup>, Andreï Tutroi<sup>3</sup>,  
Cédric Bories<sup>2</sup> & Julie Pannequin<sup>1</sup>

1: Département Physiologie et Cancer, Equipe Signalisation, plasticité et Cancer, Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF), Montpellier, France

2 : AGV discovery, *Montferrier*-sur-Lez, France

3 : Microenvironnement tumoral et résistance aux traitements, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier (IRCM), Montpellier, France

**Mots clés** : cellules tumorales circulantes (CTC), fibroblastes associés au cancer (FAC), plasticité, cancer colorectal, métastases.

Les cellules tumorales circulantes (CTC) sont des cellules qui se détachent de la tumeur primaire et s'infiltrant dans le système de circulation sanguine afin d'envahir des organes distants et former des métastases. Les CTC ont un fort phénotype de souche : auto-renouvellement, plasticité et capacité à initier des tumeurs. Des études antérieures ont démontré que les CTC ne se déplacent pas seules dans la circulation sanguine, mais qu'elles sont accompagnées d'amas de cellules immunitaires ou stromales telles que les plaquettes ou les fibroblastes associés au cancer (FAC). Les FAC sont complexes et abondants dans le microenvironnement tumoral et participent à la croissance, à l'invasion et à la chimiorésistance des cellules cancéreuses. Cette unité de migration collective améliore la survie des cellules tumorales et la colonisation d'organes distants. L'objectif de cette étude est de décrypter les interactions paracrines entre les FAC et les CTC provenant de patients atteints de cancer colorectal *in-vitro*. Pour ce faire, un milieu conditionné (MC) a été recueilli après 48 heures de co-culture de FAC et de CTC. Nos résultats suggèrent que le rôle des FAC, présents dans la circulation sanguine, est d'induire la différenciation des CTC du phénotype de cellule souche à celui de progéniteur afin d'augmenter leur capacité proliférative pour les préparer à former des métastases. Enfin, une étude du sécrétome est en cours pour déterminer de nouvelles protéines sécrétées impliquées dans la transformation des CTC en présence de la CM afin de mieux déclencher les CTC.

**The Colibactin-Producing *Escherichia coli* alters the tumor microenvironment to immunosuppressive lipid overload facilitating colorectal cancer progression and chemoresistance.**

Nilmara de Oliveira Alves<sup>1</sup>, Guillaume Dalmasso<sup>2</sup>, Darja Nikitina<sup>3,4</sup>, Amaury Vaysse<sup>5</sup>, Richard Ruez<sup>1</sup>, Lea Ledoux<sup>6</sup>, Thierry Pedron<sup>7</sup>, Emma Bergsten<sup>8,10</sup>, Olivier Boulard<sup>1</sup>, Lora Autier<sup>1</sup>, Sofian Allam<sup>1</sup>, Laurence Motreff<sup>5</sup>, Pierre Sauvanet<sup>2</sup>, Diane Letourneur<sup>8</sup>, Pragya Kashyap<sup>9</sup>, Johan Gagnière<sup>2</sup>, Denis Pezet<sup>2</sup>, Catherine Godfraind<sup>2</sup>, Michel Salzet<sup>6</sup>, Emmanuel Lemichez<sup>8</sup>, Mathilde Bonnet<sup>2</sup>, Imène Najjar<sup>5</sup>, Christophe Malabat<sup>2</sup>, Marc Monot<sup>2</sup>, Denis Mestivier<sup>10</sup>, Nicolas Barnich<sup>3</sup>, Pankaj Yadav<sup>9</sup>, Isabelle Fournier<sup>6</sup>, Sean Kennedy<sup>3</sup>, Amel Mettouchi<sup>8</sup>, Richard Bonnet<sup>2</sup>, Iradj Sobhani<sup>10,11</sup>, Mathias Chamailard<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> ONCOLille, INSERM, U1003, Phycell, Lille, France; <sup>2</sup> Université Clermont Auvergne, Inserm U1071; <sup>3</sup> Institute Pasteur, USR3756, CNRS, Paris, France; <sup>4</sup> Laboratory of Clinical and Molecular Gastroenterology, Kaunas, Lithuania; <sup>5</sup> Institut Pasteur, Université Paris Cité, Plate-Forme Technologique Biomix, Paris, France; <sup>6</sup> University of Lille, Inserm, U-1192 - Laboratoire Protéomique, Réponse Inflammatoire et Spectrométrie de Masse-PRISM, Lille, France; <sup>7</sup> Institut Pasteur, Inserm, U1202, Paris, France; <sup>8</sup> Institut Pasteur, Université Paris Cité, Unité des Toxines Bactériennes, Paris, France; <sup>9</sup> Department of Bioscience & Bioengineering, Indian Institute of Technology, Jodhpur, Rajasthan, India; <sup>10</sup> Université Paris Est Créteil, EA7375 – EC2M, Créteil, France; <sup>11</sup> Service de Gastroentérologie CHU Henri Mondor, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris-APHP, Créteil, France.

Intratumoral bacteria flexibly contribute to cellular and molecular tumor heterogeneity for supporting cancer recurrence through poorly understood mechanisms. Using spatial metabolomic profiling technologies and 16SrRNA sequencing, we herein report that right-sided colorectal tumors are predominantly populated with Colibactin-producing *Escherichia coli* (CoPEC) that are locally establishing a high-glycerophospholipid microenvironment with lowered immunogenicity. It coincided with a reduced infiltration of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes that produce the cytotoxic cytokines IFN- $\gamma$  where invading bacteria have been geolocated. Mechanistically, the accumulation of lipid droplets in infected cancer cells relied on the production of colibactin as a measure to limit genotoxic stress to some extent. Such heightened phosphatidylcholine remodeling by the enzyme of the Land's cycle supplied CoPEC-infected cancer cells with sufficient energy for sustaining cell survival in response to chemotherapies. This accords with the lowered overall survival of colorectal patients at stage III-IV who were colonized by CoPEC when compared to patients at stage I-II. Accordingly, the sensitivity of CoPEC-infected cancer cells to chemotherapies was restored upon treatment with an acyl-CoA synthetase inhibitor. By contrast, such metabolic dysregulation leading to chemoresistance was not observed in human colon cancer cells that were infected with the mutant strain that did not produce colibactin (11G5 $\Delta$ *C/bQ*). This work revealed that CoPEC locally supports an energy trade-off lipid overload within tumors for lowering tumor immunogenicity. This may pave the way for improving chemoresistance and subsequently outcome of CRC patients who are colonized by CoPEC.

Keywords: Colibactin-producing *Escherichia coli*, land's cycle, lipid droplet, right-sided colorectal cancer.

Title : Identification of an intestinal TH17 cell-derived subset initiating cancer

Authors : Valentin Thevin\*, Olivier Fesneau\*, Valérie Pinet, Chloe Goldsmith, Baptiste Vieille, Saïdi M'Homa Soudja, Rossano Lattanzio, Michael Hahne, Valérie Dardalhon, Hector Hernandez Vargas, Nicolas Benech, Julien C. Marie

Laboratory : Cancer Research Center of Lyon (CRCL) INSERM U1052, CNRS UMR 5286, Department of Tumor Escape Resistance Immunity

Abstract :

Around 20-25 % of cancers are preceded by chronic inflammation which occurs at the same tissue and organ site where tumors will develop. This long oncogenic process, particularly observed in the intestine, is likely to involve several actors including immune cells. However, whether it can be initiated by a specific immune cell population remains unknown. Here, we described the identification of an intestinal T cell subset, derived from TH17 lymphocytes, inducing the spontaneous transformation of the healthy intestinal epithelium. This subset produced a large panel of inflammatory cytokines and its tumorigenic potential did not rely on IL-17 production but on the transcriptional factors KLF6 and T-BET. Interestingly, its development is inhibited by the TGF- $\beta$ 1 produced by intestinal epithelial cells (IECs). TGF- $\beta$  signaling acts on a pre-tumorigenic TH17 subset preventing its progression to the tumorigenic stage by inhibiting KLF6-dependent T-BET expression. Thus, this study reveals that the intestine hosts a pre-tumorigenic TH17 cell subset, whom potential to initiate cancer is inhibited by IECs-produced TGF- $\beta$ 1, pinpointing an unsuspected protective mechanism against cancer development.

Keywords : Inflammation / T lymphocytes / Cancer / Intestine / Duodenum

**Synergistic effect of Oxaliplatin, ATR inhibitor and anti-PD1 combination, leads to colon cancer carcinogenesis eradication through deregulation of neutrophil homeostasis and increased PD1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells population in mice.**

Chiara Ursino, Alexandra Fauvre, Louis-Antoine Milazzo, Véronique Garambois, Elodie Culerier, Nadia Vezzo-Vié, Laura Jeanson, Augusto Faria Andrade, Eve Combes, Julie Constanzo, Salima Atis, Nathalie Bonnefoy, Henri-Alexandre Michaud, Lakdhar Khellaf, Iléana Corbeau, Diego Tosi, Olivia Sgarbura, Céline Gongora, Julien Faget.

Institut de Recherche en Cancérologie

INSERM U1194

124 Avenue des Apothicaires,

34090, Montpellier

**Abstract**

Colorectal cancer (CRC) is the third most common type of cancer and one of the leading cause of cancer-related deaths worldwide. The treatment of advanced metastatic forms of CRC relies on the use of conventional chemotherapies such as FOLFOX and FOLFIRI regimen associating 5-FU, oxaliplatin or irinotecan. However, their use is limited by the emergence of resistance mechanisms, including to oxaliplatin. In this context, we have recently shown that the combination of oxaliplatin and ATR inhibition (VE-821) is synergistic and may have a potential therapeutic effect in the treatment of metastatic colorectal cancer. We now studied the role of this combination (called VOX for VE-821 + Oxaliplatin) on the immune response and a potential synergy with anti-PD1. We have shown that VOX + anti-PD1 are reducing the tumor growth until no tumor is visible and protect 100% of cured animals from a rechallenge. VOX treatment is associated with a reduction of tumor-infiltrated neutrophils and CD206<sup>+</sup> macrophages while inducing CD8<sup>+</sup> T cell accumulation in the tumor. Indeed, we observed that Vox induced a deep depletion of both tumor and peripheric neutrophil which associate with an increased bone marrow neutropoiesis that failed compensating VOX mediated differentiated neutrophil depletion.

Interestingly, we observed that artificially depleting neutrophils, using novel mouse IgG2a anti-Ly6G ab treatment, mimics VOX impact on the tumor microenvironment by eradicating tumor neutrophils and reducing CD206<sup>+</sup> macrophages accumulation in favor of CD8<sup>+</sup> T cells infiltration.

However, Vox treatment but not neutrophil depletion led to increased PD1 expression on CD8<sup>+</sup> T cells present in blood and spleen. This observation might further explain how combining VOX and anti-PD1 displays major anti-tumor effect. These PD1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells expressed EOMES and proliferate in spleen. Furthermore, they are containing a strong proportion of Ly6C<sup>+</sup> CD62L<sup>+</sup> cells (effector memory phenotype) which might allow long-term protection against tumor rechallenge.

*Key words: Colorectal cancer; Chemotherapies; Immune checkpoint inhibitor; Neutrophils homeostasis; CD8<sup>+</sup> T cells*

## HDAC inhibition favors apoptosis and immunogenic cell death caused by oxaliplatin in gastric cancer: role of PD-L1, and HIF-2 $\alpha$

Amandine Badie, Chloé Thibaudeau, Véronique Devignot, Christophe Orvain, Christian Gaidon, and Georg Mellitzer

Team HERIIT « Heterogenicity tumoral - Resistance - Inflammation & Innovative Therapy »  
INSERM U1260 - Regenerative Nanomedicine  
CRBS, 1 Rue Eugène Boeckel, 67085 Strasbourg

**Key words:** Gastric cancer, Immunogenic cell death, PD-L1, HIF-2 $\alpha$

### Abstract:

Gastric cancer (GC) is an aggressive pathology that frequently (~75%) develop resistance to treatment (mostly platinum-based chemotherapies), attributed to various mechanisms such as mutations in *TP53* and overexpression of histone deacetylases (HDACs). Furthermore, immunotherapy yields favorable responses in only a subset of cases (16%). To enhance the effectiveness of immunotherapy, the induction of immunogenic cell death (ICD) has emerged as a promising strategy. ICD is characterized by the release of Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) and the recruitment/activation of immune cells. In this context, we investigated whether the inhibition of HDACs, using Suberanilohydroxamic acid (SAHA), can potentiate the response to oxaliplatin in GC cells on apoptosis and ICD induction. Our findings reveal a synergistic effect of the co-treatment causing a caspase-dependent apoptosis via p53 and Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1). PD-L1 expression relies on Hypoxia-Inducible Factor-2 alpha (HIF-2 $\alpha$ ). Moreover, the co-treatment provokes the release of several DAMPs, including the relocation of Calreticulin (CALR) to the plasma membrane, secretion of ATP and High Mobility Group Box 1 (HMGB1), and the activation of Interferon-gamma (IFN $\gamma$ ). We confirmed ICD induction by showing the phagocytosis of GC cells by macrophages and an anti-tumor immune response characterized by vaccination and the recruitment of cytotoxic T lymphocytes (CTL). Collectively, our results underscore the role of HDAC inhibition in enhancing oxaliplatin's efficacy against GC by synergistically promoting apoptosis and ICD. This innovative approach reshapes intra-tumor heterogeneity by reconfiguring the immune landscape towards an anti-tumoral immune response.

**Title:** Role of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 on the Tumorigenic and Invasive Properties of Cancer Stem Cells in Gastric Adenocarcinoma

**Authors:** Ana Sofía VÁZQUEZ-URIOLA<sup>1</sup>, Anissa ZAAFOUR<sup>1</sup>, Nina REITANO-FERBER<sup>1</sup>, Tra Ly NGUYEN<sup>1</sup>, Abdel-Majid KHATIB<sup>2</sup>, Christine VARON<sup>1</sup>

*Université de Bordeaux, <sup>1</sup>Team 4 “Helicobacter-associated digestive cancers, cancer stem cells and therapeutic strategies” U1312 INSERM Bordeaux Institute of Oncology (BRIC); <sup>2</sup>Team 2 “Reprogramming tumor activity and associated microenvironment” RYTME U1312 INSERM BRIC*

Adresse : bât Bordeaux Biologie Santé, 4e étage, bureau 4039, 2 rue Dr Hoffman Martinot, case postale 10

**Abstract (environ 250 mots)**

Gastric cancer is the 5th most common malignancy and the 4th leading cause of cancer-related death worldwide (IARC, 2020). Most cases are gastric adenocarcinomas (GC), that are usually detected during the metastatic stage, and have a high number of relapses, with a five-year survival rate lower than 20%. Increasing evidence suggests that GC bad prognosis is caused by cancer stem cells (CSCs): a tumor cell subpopulation with the capacity of inducing GC initiation, growth, relapse and metastasis. CSCs hijack cell signalling pathways for their survival, including the Hippo YAP/TAZ/TEAD signalling, allowing the oncogenic genes' expression. In GC, the expression of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 (PCSK9), a member of the proprotein convertases (PCs) family, seems to be correlated with cancer progression and poor prognosis. In our team, it was shown that PCSK9 is highly overexpressed in GC CSCs. Hence, PCSK9 might play a role in the control of GC CSCs properties. In this context, we studied PCSK9's role on the tumorigenic and invasive properties of CSCs in GC, and on the activation state of the Hippo YAP/TAZ/TEAD pathway. A pharmacological inhibitor of PCSK9 expression called R-IMPP was used to evaluate PCSK9 inhibition's impact on: 1) GC CSCs tumorigenic properties *in vitro*; and 2) the Hippo YAP/TAZ/TEAD pathway *in vitro*. PCSK9 inhibition caused a decrease in the tumorsphere formation capacity of GC CSCs, on the protein levels and nuclear expression of Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) markers, and of the invasiveness of GC cells. Moreover, PCSK9 inhibition affected YAP/TAZ's protein levels and nuclear expression on GC cells. Impact on TEAD transcriptional activity is currently under investigation. These results suggests that PCSK9 may control GC CSCs tumorigenic and invasive properties through the EMT and the YAP/TAZ pathway, and it could constitute a potentially new therapeutic target in GC.

**Mots clés :** Cancer Stem Cells; Gastric Cancer; PCSK9 ; Hippo pathway; EMT

Rôle des cellules tuft dans le cancer gastrique induit par *Helicobacter felis*

Julie Bas, Alban Giese, Alicia Giordano, Fabien Herbert, Jérôme Guignard, Elodie Sifré, Imène Gasmi, Coralie Genevois, Christine Varon, François Gerbe\* et Philippe Jay\*

\*Contribution égale

Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF); 141 rue de la Cardonille; 34094 Montpellier cedex 5; CNRS UMR 5203; Inserm U1191; Université de Montpellier  
Bordeaux Institute of Oncology (BRIC); 2 rue du Dr. Hoffmann Martinot; 33076 Bordeaux; Inserm U1312 ; Université de Bordeaux

*Helicobacter pylori* est une bactérie provoquant une inflammation chronique de l'estomac, pouvant évoluer à terme jusqu'au développement de carcinome invasif. Cette infection touche 50% de la population mondiale; il est donc nécessaire de mieux comprendre les interactions entre la bactérie et la muqueuse gastrique pour prévenir cet effet oncogénique. Les cellules tuft sont des cellules épithéliales rares de la muqueuse gastrointestinale, connues pour être impliquées dans la réponse immunitaire de type 2 lors d'infections parasitaires. De manière surprenante, dans plusieurs modèles murins de cancer gastrique, une forte augmentation du nombre de cellules tuft a été observée. Nous avons étudié leur rôle lors de l'infection avec *Helicobacter felis*, un modèle de tumorigenèse gastrique mimant la pathologie humaine. Nous avons infecté des souris sauvages ou dépourvues de cellules tuft (*Pou2f3*<sup>-/-</sup>) pour réaliser des analyses histologiques et immunitaires de leurs estomacs. Dans les souris sauvages infectées, la muqueuse gastrique présente une inflammation importante, ainsi que des lésions préneoplasiques. De manière frappante, aucune lésion ni quasiment aucune inflammation ne sont observées chez les souris *Pou2f3*<sup>-/-</sup>. De plus, l'infection induit une réponse immunitaire de type 2 dont la mise en place est dépendante des cellules tuft. Pour confirmer l'implication de cette réponse, nous avons infecté des souris dont la réponse immunitaire de type 2 est abrogée (*Il4rα*<sup>-/-</sup>). Les souris *Il4rα*<sup>-/-</sup> phénotypent les souris *Pou2f3*<sup>-/-</sup>, elles ne développent pas de lésions ni d'inflammation suite à l'infection. Ces résultats démontrent un rôle clé des cellules tuft dans l'initiation de la cascade infection-gastrite-néoplasie *via* un mécanisme impliquant la mise en place d'une immunité de type 2. Des analyses transcriptomiques sur un temps d'infection très court nous permettront de comprendre plus précisément le lien entre l'infection et l'activation des cellules tuft. L'objectif final est de transposer ces résultats à l'homme pour proposer de nouvelles pistes thérapeutiques.

**Mots clés :** Cellules tuft, *Helicobacter*, relation hôte-pathogène, cancer de l'estomac, immunité de type 2

## **La déficience en HDAC3 potentialise la métaplasie des cellules acineuses pancréatiques et facilite la néoplasie intraépithéliale pancréatique médiée par KRAS**

Marie Dumont<sup>1</sup>, Diane Lorenzo<sup>1</sup>, Anaïs Chassac<sup>2</sup>, Aïcha Sane<sup>1</sup>, Louis Marstrand-Daucé<sup>1</sup>, Louise Galey<sup>1</sup>, Pascal Nicole<sup>1</sup>, Anne Couvelard<sup>2</sup>, Cécile Haumaitre<sup>1</sup>

1) INSERM U1149 - Centre de recherche sur l'inflammation (CRI) - Faculté de Médecine Bichat. Université de Paris Cité

2) Service d'anatomopathologie, Hôpital Bichat, Paris

### **Introduction.**

La métaplasie acino-canalaire (MAC) est un processus réversible où les cellules acineuses du pancréas se transforment en cellules canalaire, favorisant la régénération en cas d'inflammation. Cependant, une inflammation et une MAC persistantes conduisent à la néoplasie intraépithéliale pancréatique (PanIN), précurseur de l'adénocarcinome canalaire du pancréas (PDAC). Comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans ces processus d'initiation du cancer pancréatique est crucial. Nous avons examiné le rôle d'HDAC3 dans ce contexte.

### **Matériel et Méthodes.**

Des cultures primaires de cellules acineuses invalidées pour Hdac3 ont été réalisées en matrice 3D (Souris *Ptf1a-Cre<sup>ER</sup>;Hdac3<sup>fl/fl</sup>;R26R<sup>YFP/YFP</sup>*). Les souris *Ptf1a-CreER;Hdac3<sup>fl/fl</sup>;R26R<sup>YFP/YFP</sup>* ont été soumises à un modèle de pancréatite chronique à la céruléine. La combinaison de l'activation de *KRAS<sup>G12D</sup>* à l'inactivation d'*Hdac3* a été analysée avec et sans céruléine (Souris *Ptf1a-Cre<sup>ER</sup>;LSL-KRAS<sup>G12D/+</sup>;Hdac3<sup>fl/fl</sup>;R26R<sup>YFP/YFP</sup>*).

### **Résultats.**

Les cellules acineuses déficientes en *Hdac3* montrent une capacité accrue à induire de la MAC *ex vivo*. Les pancréas inactivés pour *Hdac3* dans les cellules acineuses présentent un phénotype très aggravé de pancréatite chronique avec une forte atrophie ainsi que des zones étendues de MAC et de fibrose. Les cellules acineuses déficientes en *Hdac3* augmentent la formation de PanIN médiée par *KRAS* avec et sans céruléine.

### **Conclusion.**

Les résultats démontrent le rôle protecteur de HDAC3 dans la transformation des cellules acineuses induite par l'inflammation. Comprendre les fonctions spécifiques de HDAC3 dans la régénération cellulaire et l'initiation des néoplasies est essentiel pour utiliser ce facteur épigénétique en tant que biomarqueur et identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour la pancréatite et les premières phases du cancer pancréatique.

**Mots clés :** épigénétique, pancréatite, cancer du pancréas, métaplasie, néoplasie.

**L'expression ectopique de CDX2 dans le pancréas exerce un effet pro-oncogénique, dépendant du domaine de liaison à l'ADN mais indépendant du domaine de transactivation.**

*Bénédicte Caron<sup>1</sup>, Jeanny Tchiloemba Biakou<sup>1,2</sup>, Nicolas Jonckheere<sup>3</sup>, Andréa Thévenot<sup>1</sup>, Mohamed Elati<sup>3</sup>, Asmaa Nair<sup>1</sup>, Vinciane Rebours<sup>4</sup>, Claire Domon-Dell<sup>1,2</sup>, Isabelle Van Seuning<sup>3</sup>, Jean-Marie Reimund<sup>1</sup>, Jean-Noël Freund<sup>\*1,5</sup>, Isabelle Duluc<sup>1,2\*</sup>.*

*1- Inserm UMR\_S1113 IRFAC, 2- Inserm UMR\_S1109, Université de Strasbourg, 3- Canther, OncoLille, Lille, 4- AP-HP Hôpital Beaujon Clichy, 5- Inserm UMR\_S1256 NGERE, Nancy, Université de Lorraine.*

Les cellules cancéreuses présentent une grande plasticité cellulaire. Parmi les gènes impliqués dans cette plasticité, le gène homéotique *CDX2*, déterminant de l'identité intestinale et suppresseur de tumeurs dans l'intestin, est exprimé de manière anormale dans environ la moitié des adénocarcinomes pancréatiques humains (PDAC). Nous avons montré que l'expression ectopique de *CDX2* ne modifie pas la survie des patients atteints de PDAC, mais qu'elle est déjà activée au sein des lésions précancéreuses chez l'homme ainsi que chez la souris dans des lésions pancréatiques induites par l'oncogène *KRAS*<sup>G12D</sup>. L'expression ectopique de *CDX2* dans le pancréas de souris conduit à une plasticité cellulaire en générant une métaplasie acino-canaulaire qui adopte secondairement une différenciation de type intestinal. Ces lésions n'évoluent pas spontanément en tumeur pancréatique. Cependant, *CDX2* exacerbe la tumorigenèse pancréatique induite par l'activation oncogénique de *KRAS* (*KRAS*<sup>G12D</sup>). A l'aide de modèles murins possédant des constructions différentes de l'ADNc de *CDX2*, nous avons mis en évidence que le domaine de liaison à l'ADN de *CDX2*, sans le domaine de transactivation, est suffisant pour l'induction de la métaplasie acino-canaulaire et la stimulation de la tumorigenèse dépendante de *KRAS*<sup>G12D</sup>, alors que la différenciation de type intestinal nécessite le domaine de transactivation. Ainsi, contrairement à son activité de suppresseur de tumeur dans l'intestin, *CDX2* est pro-oncogénique dans le pancréas, cet effet étant dépendant de son domaine de liaison à l'ADN mais indépendant de son domaine de transactivation.

Mots clés : métaplasie, différenciation, gène homéotique, cancer du pancréas, *KRAS*

## Role of Vps34 in pancreatic cancer initiation

Hala Shalhoub<sup>1</sup>, Benoit Thibault<sup>1</sup>, Fernanda Ramos-Delgado<sup>1</sup>, Camille Guyon<sup>1</sup>, Nicole Therville<sup>1</sup>, Carine Joffre<sup>1</sup>, Marlène Dufresne<sup>1</sup>, Elisa Boutet-Robinet<sup>2</sup>, Julie Guillermet-Guibert<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CRCT UMR1037 INSERM/ Université Paul Sabatier/ CNRS, Toulouse, France

<sup>2</sup>Toxalim Inrae, Toulouse, France

Key words : PDAC, Vps34, KC, autophagy & Regs proteins.

**Context** Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) will become the second cause of cancer-related mortalities by 2030. PI3K/Akt/mTORC1 pathway is among the major oncogenic signaling pathways that are activated in PDAC. Whether class III PI3K also tightly control mTORC1 in physiological settings remains controversial; besides, the role of class III PI3-kinase remained underexplored both in PDAC and in pancreatitis, a potential risk factor for PDAC development. Class III PI3K comprises only one isoform named Vps34. Through its kinase activity, Vps34 plays a role in regulating autophagy. Autophagy is an evolutionarily conserved process, which plays an important function in both pancreatic physiology and pathophysiology.

**Methods** In our study, we developed Vps34<sup>+/+</sup>, Vps34<sup>KI/KI</sup>(=V34), KC and KCVps34<sup>KI/KI</sup>(=KCV34) mice models to understand the role of class III of PI3-kinase in pancreatic diseases. Single-cell RNA sequence analysis, western blot analysis, immunofluorescence analysis and immunohistochemistry analysis were performed for collected tissues or acini cultured *ex-vivo*. Data were confirmed on Human samples.

**Results** Vps34 inactivation in exocrine pancreas resulted in fibrogenesis and lipid accumulation. In vivo and ex vivo, acinar cells had heterogeneous levels of autophagy ; Vps34 inactivation showed blocked flux of autophagy and differential expression levels of autophagy-regulating proteins compared to WT acini. Autolysosome surface decreased in acinar cells with Vps34 inactivation. Surprisingly, despite a blockage of autophagy, those cells appeared resistant to mutant Kras oncogenicity as full inactivation of Vps34 in KC mice led to absence of precancer lesions in aged mice. ScRNA-seq showed that Vps34 inactivation prompted a selective loss of a subset of acinar cells with high mitochondrial and autophagy-related genes. Moreover, acinar cells with Vps34 inactivation showed enrichment in the expression of regenerating islet-derived 3 beta (Reg3b) gene. Acinar cells with Vps34 inactivation showed difference in Regs protein levels both at the basal levels and in response to autophagy modulators compared to WT acini. Finally, acinar cells with Vps34 inactivation showed also decreased levels of p-Akt levels, known to be necessary to pancreatic plasticity.

**Conclusion** Vps34 full inactivation may protect from initiation of precancer lesions in the context of inflammation by bypassing epithelial plasticity. These finding may be a key to understand pancreatic cancer initiation.

## **Trogocytosis of cancer-associated fibroblasts promotes pancreatic cancer growth and immune suppression via phospholipid scramblase anoctamin 6 (ANO6)**

Charline Ogier<sup>1,2,3</sup>, Akino Mercy Charles Solomon<sup>4</sup>, Zhen Lu<sup>5</sup>, Ludmila Recoules<sup>3</sup>, Alena Klochkova<sup>4</sup>, Linara Gabitova-Cornell<sup>1,2</sup>, Battuya Bayarmagnai<sup>6</sup>, Diana Restifo<sup>1,2</sup>, Aizhan Surumbayeva<sup>1,2</sup>, Débora B. Vendramini-Costa<sup>1,2,‡</sup>, Alexander Y. Deneka<sup>1</sup>, Ralph Francescone<sup>1,2,‡</sup>, Anna C. Lilly<sup>1,7</sup>, Alyssa Sipman<sup>1,2</sup>, Jaye C. Gardiner<sup>1,2</sup>, Tiffany Luong<sup>1,2</sup>, Janusz Franco-Barraza<sup>1,2</sup>, Nina Ibeme<sup>1</sup>, Kathy Q. Cai<sup>1</sup>, Margret B. Einarson<sup>1</sup>, Emmanuelle Nicolas<sup>1</sup>, Andrei Efimov<sup>1</sup>, Emily Megill<sup>8</sup>, Nathaniel W. Snyder<sup>8</sup>, Corinne Bousquet<sup>3</sup>, Jérôme Cros<sup>9</sup>, Yunyun Zhou<sup>1</sup>, Erica A. Golemis<sup>1,10</sup>, Bojana Gligorijevic<sup>1,6</sup>, Jonathan Soboloff<sup>4,10</sup>, Serge Y. Fuchs<sup>5</sup>, Edna Cukierman<sup>1,2\*\*</sup> and Igor Astsaturov<sup>1,2\*\*</sup>

<sup>1</sup> Program in Cancer Signaling & Microenvironment, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA 19111, USA <sup>2</sup> The Marvin & Concetta Greenberg Pancreatic Cancer Institute, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, 19111, USA <sup>3</sup> Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse (CRCT), Université de Toulouse, INSERM UMR-1037, CNRS ERL5294, Equipe de Recherche Labellisée “Ligue Contre le Cancer”, Toulouse, France <sup>4</sup> Fels Cancer Institute for Personalized Medicine, Lewis Katz School of Medicine at Temple University, Philadelphia, PA 19140, USA <sup>5</sup> Department of Biomedical Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA 19104, USA <sup>6</sup> Department of Bioengineering, Temple University, Philadelphia, PA, 19140, USA <sup>7</sup> Molecular and Cell Biology and Genetics (MCBG) Program, Drexel University College of Medicine, Philadelphia, PA 19102, USA <sup>8</sup> Department of Cardiovascular Sciences, Lewis Katz School of Medicine, Philadelphia, PA 19104, USA <sup>9</sup> Hôpital Beaujon - INSERM U1149 - Clichy, France <sup>10</sup> Department of Cancer and Cellular Biology, Lewis Katz School of Medicine, Philadelphia, PA, 19140, USA ‡ Current address: Henry Ford Pancreatic Cancer Center, Detroit, MI, USA \*\* corresponding authors

The fibroblastic stroma comprises most of pancreatic adenocarcinoma mass and is remarkably devoid of functional blood vessels leaving an unresolved question of how pancreatic cancer cells obtain their essential metabolites. We have found a critical role for cancer-associated fibroblasts (CAFs) to obtain and transfer blood-borne lipid particles to cancer cells via trogocytosis, a process of “nibbling” of plasma membranes between two cells engaged in synapse-like membrane contacts. The biochemical and signaling regulators of trogocytosis between CAFs and PDAC cells have not been defined.

We determined that CAF membrane trogocytosis is triggered by externalized phosphatidylserine (PtdSer), and blockade of PtdSer *in vitro* deters trogocytic uptake of CAF membranes.

We have also discovered ANO6, expressed in CAFs, as the essential trogocytosis regulator to promote cancer cell survival. Mechanistically, CAF-cancer cell membrane contacts induce cytosolic calcium influx via Orai channels, which activates ANO6 and results in phosphatidylserine exposure on CAFs. As a promising therapy target, ANO6 protein is highly expressed in PDAC tumor mass in cancer cells, CAFs and is a negative prognostic biomarker for survival. Depletion of ANO6 in co-implanted CAFs reduced the growth of orthotopic pancreatic tumor grafts. Furthermore, pharmacologic inhibitors of ANO6 block cholesterol uptake *in vivo* by PDAC cells.

Our findings indicate a novel trogocytosis function for CAFs as the main mechanism of lipids delivery to cancer cells. CAFs do so by expressing PtdSer as “eat me” signals. Re-purposing of clinically available ANO6 inhibitors could make a tangible impact on treatment of PDAC patients in the near term.

Key words: PDAC, tumor microenvironment, cholesterol, scramblase, trogocytosis

**TITRE** : Sensibilisation du micro-environnement tumoral aux immunothérapies de points de contrôle immunitaire par l'utilisation d'immunocytokine et de chimiothérapie dans le cancer du pancréas.

**Authors** : Thomas BESSEDE, Clara Freixinos, Véronique GARAMBOIS, Nadia VIE, Henri-Alexandre MICHAUD, Julien FAGET, Nelly Pirot, Nathalie BONNEFOY, Céline GONGORA, Bruno ROBERT, Laurent GROS\* & Christel LARBOURET\*

Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier

\*Co senior auteur

**Keywords** : Pancreatic Duct Adenocarcinoma (PDAC), immunomodulation, 3D heterotypic models, therapeutic combination, cancer associated fibroblast (CAFs)

**Abstract:**

L'adénocarcinome canalaire pancréatique (PDAC) reste l'une des tumeurs solides les plus mortelles caractérisées par un pronostic défavorable et résistante aux traitements conventionnels en raison de son stroma dense de fibroblastes associés au cancer (CAF). L'infiltration limitée des cellules T et la prévalence de cellules immunosuppressives entravent l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire (ICI). Notre objectif est de modifier le micro-environnement immunitaire pour sensibiliser le PDAC aux ICI. Nous combinons une immunocytokine ciblant l'AXL, surexprimé dans le PDAC, fusionné avec l'interleukine-15 (anti-AXL-IL15 mAb), à des chimiothérapies conventionnelles (gemcitabine ou FOLFIRINOX).

Nous avons créé un modèle hétérosphéroïde in vitro pour reproduire précisément les interactions complexes entre le cancer et le stroma dans le micro-environnement tumoral pancréatique (MET). Ce modèle intègre des lignées tumorales de xénogreffes PDAC, des CAFs primaires ou immortalisées, et des cellules immunitaires (PBMC). Les modèles humains en 3D ont été caractérisés par cytométrie en flux, imagerie par spectrométrie de masse et IHC. Les CAFs dans ces modèles reproduisent des éléments de la matrice extracellulaire, favorisent la croissance tumorale, renforcent la résistance à la chimiothérapie, et régulent l'infiltration des cellules immunitaires.

La combinaison anti-AXL-IL15/Gemcitabine a induit une infiltration importante de cellules immunitaires dans les hétérosphéroïdes, modifiant significativement la composition immunitaire avec une augmentation des lymphocytes T CD4+, CD8+ et des cellules NK. La suite du projet implique d'évaluer in vivo cette combinaison dans un modèle murin immunocompétent de cancer du pancréas ainsi que de caractériser la réponse anti-tumorales immunitaires induites par les traitements.

**Impact of the tumor microenvironment on the treatment of colorectal cancer and the design of therapeutic drugs**

*Influence du microenvironnement tumoral sur le traitement du cancer colorectal et la conception de médicaments*

Alexandre Calon

*Translational Research in Tumor Microenvironment (TReaTMe Lab)*

*Hospital del Mar Research Institute*

*C/ Dr Aiguader, 88, 08003 Barcelona, Spain*

L'impact à long terme sur les cellules saines, provoqué par les agents thérapeutiques conçus pour éliminer les cellules cancéreuses, est souvent négligé pendant le traitement des patients. Nous avons découvert que, à la différence des cellules cancéreuses colorectales, le microenvironnement tumoral composé de cellules normales accumule et conserve la chimiothérapie à base d'oxaliplatine pendant une période prolongée après la fin du traitement. Nos observations ont révélé que l'absorption de la chimiothérapie remodèle le microenvironnement tumoral et active un programme associé à un pronostic défavorable en augmentant l'activité du transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) dans les fibroblastes associés au cancer. Nous avons identifié la periostine (POSTN) comme étant à la fois un biomarqueur des fibroblastes activés par l'oxaliplatine et un promoteur de la résistance à la chimiothérapie in vivo, permettant ainsi de détecter la résistance primaire ou acquise à la thérapie chez les patients.

Forts de ces connaissances, nous avons développé C-POC (Cell-penetrating Peptide/Oxaliplatin Conjugate), un composé original associant l'oxaliplatine avec un peptide pénétrant préférentiellement dans les cellules cancéreuses colorectales. Cette chimiothérapie ciblée, tout en restant cytotoxique pour les cellules cancéreuses, épargne les effets de remodelage du microenvironnement tumoral induits par les médicaments standards. De plus, nous avons pu observer in vivo que l'accumulation de C-POC est significativement réduite dans les cellules normales des organes sains, atténuant ainsi la toxicité indésirable, notamment associée à l'absorption systémique de l'oxaliplatine.

**Mots clés:** microenvironnement tumoral, cancer colorectal, chimiothérapie

## **Post-surgery sequelae unrelated to disease progression and chemotherapy revealed in follow-up of stage III colon cancer patients**

**Andrei Kudriavtsev<sup>1</sup>, Alexia Mirandola<sup>1</sup>, Catalina Isabel Cofre Muñoz<sup>2</sup>, Raquel Comas Navarro<sup>3</sup>, Marco Macagno<sup>4</sup>, Brice Pastor<sup>1</sup>, Ekaterina Pisareva<sup>1</sup>, Mireia Sanchis Marin<sup>3</sup>, Javier Gonzalo Ruiz<sup>3</sup>, Anna Sapino<sup>4</sup>, Alice Bartolini<sup>4</sup>, Massimo Di Maio<sup>5</sup>, Cynthia Sanchez<sup>1</sup>, Yann Gricourt<sup>6</sup>, Xavier Capdevila<sup>7</sup>, Gerald Lossaint<sup>8</sup>, Evelyne Crapez<sup>1,9</sup>, Marc Ychou<sup>8</sup>, Ramon Salazar Soler<sup>2</sup>, Elisabetta Fenocchio<sup>4</sup>, Paula X. Fernandez Calotti<sup>2</sup>, Philippe Cuvillon<sup>7</sup>, Thibault Mazard<sup>8</sup>, Cristina Santos Vivas<sup>2</sup>, Elena Elez<sup>3</sup>, Federica Di Nicolantonio<sup>4</sup> and and Alain R. Thierry<sup>8</sup>.**

<sup>1</sup> IRCM, Montpellier Cancer Research Institute, INSERM U1194, Montpellier University, Montpellier, F-34298, France;

<sup>2</sup> Medical Oncology Department, Institut Català d'Oncologia (ICO) - IDIBELL, Barcelona, Spain;

<sup>3</sup> VHIO Vall d'Hebron Institute of Oncology, Medical Oncology Department, Barcelona, Spain;

<sup>4</sup> Istituto di Candiolo - Fondazione del Piemonte per l'Oncologia - IRCCS, Candiolo, Torino, Italy;

<sup>5</sup> Department of Oncology, University of Torino, Turin, Italy;

<sup>6</sup> Department of Anaesthesiology and Pain Management, Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Carémeau, France;

<sup>7</sup> Division of Anaesthesia Intensive Care, Pain and Emergency Medicine, Montpellier University Hospital, Montpellier, France

<sup>8</sup> ICM, Institut Régional du Cancer de Montpellier, Montpellier, F-34298, France ;

A gap currently exists in our understanding of causes of elevated total circulating DNA (cirDNA) levels in cancer patients following tumor resection. Since cirDNA levels were recently found to be associated with neutrophil extracellular traps (NETs) formation, we conducted two clinical studies to explore the dynamics of these markers in patients with non-metastatic colon, prostate and breast cancer. We observed that (i), NETs formation contributes to post-surgery conditions; (ii), peri- and post-surgery cirDNA levels were highly associated with NETs formation in colon cancer; (iii), each tumor type showed a specific pattern of the peri-surgery dynamics of cirDNA and NETs markers; (iv), a significant proportion of patients showed pre- (58.1%) and post-surgery (80.4%) median marker values higher than in healthy individuals, even after 2 years following tumor resection, (v) these markers were either equal to or greater (23.2%) than their pre-surgery counterparts; and (vi), elevated values of these markers did not derive from chemotherapy toxicity.

We provide evidence that, for cancer patients in the post-surgery period, cirDNA originates mainly from NETs. This finding calls into question the current method of assessing minimal residual disease according to the fraction of mutant cirDNA, given that the level of NETs formation appears to be patient dependant. In a significant part of patients with colon cancer, NETs continue to persist for more than a year after surgery, irrespective of disease progression or chemotherapy use. Nevertheless, cirDNA and NETs marker levels vary in cases with post-surgery inflammatory/thrombotic adverse events. Our work highlights the existence of long-lasting “sequelae” effects of cancer, previously unreported.

Key words: circulating DNA, colon cancer, NETs, post-surgery, sequelae

## Transcriptional regulation of the proliferation/differentiation balance in the intestinal epithelium

Nour Sfeir<sup>1</sup>, Marilyn Kajdan<sup>1</sup>, Stéphan Jalaguier<sup>1</sup>, Sandrine Bonnet<sup>1</sup>, Catherine Teyssier<sup>1</sup>, Florence Boissiere-Michot<sup>1,3</sup>, Audrey Castet-Nicolas<sup>1</sup>, Marion Lapierre<sup>1</sup> and Vincent Cavallès<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IRCM, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, Montpellier, F-34298, France; INSERM, U1194, Montpellier, F-34298, France; Université de Montpellier, Montpellier, F-34090, France; Institut régional du Cancer de Montpellier, Montpellier, F-34298, France.

<sup>2</sup> Translational Research Unit, Montpellier Cancer Institute Val d'Aurelle, Montpellier, France

### Abstract

The transcription factor RIP140 regulates intestinal homeostasis and tumorigenesis through the Wnt signaling. In the present work, we investigated its crosstalks with the Notch signaling pathway. We first described the RIP140 gene as a negative target of Notch. In human colorectal cancer (CRC) cell lines and in transgenic mouse models, RIP140 increases differentiation into mucus-secreting lineage through the regulation of the *KLF4* gene expression. In relation to this observation, RIP140 expression is decreased in human biopsies of intestinal tissue from patients suffering ulcerative colitis.

In addition, in CRC cells, RIP140 positively regulated *HES1* gene expression at the transcriptional level via an RBPJ/NICD-mediated mechanism. In support of these *in vitro* data, RIP140 and *HES1* expression significantly correlated in mouse intestine and in a cohort of CRC samples, thus supporting the positive regulation of *HES1* gene expression by RIP140. Interestingly, when the Notch pathway is fully activated, RIP140 exerted a strong inhibition of *HES1* gene transcription controlled by the level of *HES1* itself. Moreover, RIP140 directly interacts with *HES1* and reverses its mitogenic activity in human CRC cells. In line with this observation, *HES1* levels were associated with a better patient survival only when tumors expressed high levels of RIP140.

In conclusion, these data identify RIP140 as a novel actor in the Notch pathway. RIP140 appeared to play a key role in intestinal cell homeostasis through the control of the proliferation/differentiation ratio. These effects might have clinical significance in the etiology of intestinal inflammatory diseases and colorectal cancers.

**Keywords:** Notch pathway, RIP140, colorectal cancer, IBD.

## Présentations Flash/Posters

1

### LE BUTYRATE REDUIT LA DYSFONCTION DE LA BARRIÈRE EPITHELIALE INDUITE PAR LA MYCOTOXINE DEOXYNIVALÉNOL DANS UN MODELE D'ORGANOÏDES D'INTESTIN DE PORCELETS

Julie Alberge<sup>1</sup>, Eloïse Mussard<sup>1,2</sup>, Carine Al-Ayoubi<sup>3</sup>, Corinne Lencina<sup>1</sup>, Caroline S. Achard<sup>2</sup>, Laurent Cauquil<sup>1</sup>, Isabelle P. Oswald<sup>3</sup>, Laura Soler<sup>3</sup>, Sylvie Combes<sup>1</sup>, Martin Beaumont<sup>1</sup>

1 - GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Castanet-Tolosan, France.

2 - Lallemand Animal Nutrition, Blagnac Cedex, France.

3 - Toxalim, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, Toulouse, France.

**Introduction :** Le déoxynivalénol (DON) est une mycotoxine ribotoxique connue pour induire un dysfonctionnement de la barrière épithéliale de l'intestin. A l'inverse, le butyrate est un métabolite bactérien considéré comme protecteur pour l'épithélium. Nous avons donc formulé l'hypothèse que le butyrate pourrait atténuer les effets délétères du DON.

**Matériels et méthodes :** Des monocouches dérivées d'organoïdes de jéjunum de porc (espèce particulièrement sensible au DON) ont été traitées ou non pendant 24h avec du butyrate (1mM). Les cellules ont ensuite été traitées pendant 24h par du DON (100µM) ou par une autre ribotoxine, l'anisomycine (1µM), en combinaison ou non avec du butyrate. La fonction de barrière épithéliale a été évaluée par l'étude de la perméabilité (résistance électrique transépithéliale [TEER] et transport de FITC-dextran 4 kDa), l'expression de gènes a été analysée par qPCR et la morphologie des cellules a été caractérisée par microscopie électronique.

**Résultats :** Le butyrate a atténué l'augmentation de la perméabilité épithéliale induite par le DON ou par l'anisomycine, suggérant une réduction du stress ribotoxique. Le butyrate s'est également opposé aux effets du DON sur l'expression de gènes impliqués dans : la formation des jonctions serrées (TJP1, OCLN), les défenses épithéliales innées (TLR5, CD14, MYD88, NFKB2, PTGS2), la différenciation des cellules absorbantes (CFTR, NHE3, CA2, VIL1) et caliciformes (KLF4). Cependant, le butyrate n'a pas limité la réduction de la hauteur des cellules épithéliales et de leurs microvillosités induite par le DON.

**Conclusion :** Le butyrate a permis d'atténuer certains effets délétères du DON sur la barrière épithéliale intestinale, possiblement en levant l'inhibition de la synthèse protéique. Nos résultats ouvrent la voie à l'utilisation du butyrate comme une stratégie préventive de la toxicité intestinale du DON.

**Mots clés :** déoxynivalénol, butyrate, monocouches dérivées d'organoïdes, épithélium intestinal.

## **The gut microbiome as a target for intestinal recovery and therapeutic approaches for short bowel syndrome**

Bourgin B., Garrigues A., Atger D., De Dreuille B., Dumay A., Ribeiro-Parenti L., Fourati S., Roy M., Bado A., Le Gall M., Le Beyec-Le Bihan J.

Plasticity in Gastro-Intestinal Mucosa and Nutritional Pathologies (PIMs)  
Inserm UMR1149, Centre de Recherche sur l'Inflammation Paris Montmartre (CRI)  
16, rue Henri Huchard - 75890 Paris Cedex 18, France

### **Abstract**

GLP-2 is critical for controlling gut function and as a drug target. GLP-2 analogues such as Teduglutide® are available to improve nutrient absorption in patients with short bowel syndrome (SBS). However, there is considerable heterogeneity in SBS between individuals and in response to Teduglutide®. Several studies have shown the efficacy of certain therapies appears to depend on gut microbiome profile. Our hypothesis is the gut microbiome plays a role in spontaneous adaptation, underlying phenotypes and treatment response in SBS.

In this project, we investigated on the gut microbiota in murine models of SBS and the response to treatment with GLP-2 analogues. We analysed stool sample from SBS murine model without or with Teduglutide® therapy through an 16S ribosomal RNA sequencing for microbiome analysis. The evolution of weight and food intake, the morphology of intestinal were monitored.

We provide evidence the relationship between intestinal recovery phenotypes and gut microbiome in SBS murine model without and with Teduglutide. Further analysis using the phenotype-stratified data showed the profile of high intestinal recovery tended to have more jejunal hyperplasia and genus diversity of the gut microbiota compared to the SBS group with low intestinal recovery.

These preliminary results indicate that the gut microbiome may be related to intestinal recovery and in Teduglutide® treatment response in SBS patients. The dynamic variation characteristics of the gut microbiome may provide early prediction of the outcome of intestinal adaptation which is critical for SBS disease-monitoring and treatment decision-making.

**Keys-words:** short bowel syndrome; gut microbiome; teduglutide; stratification.

## **The role of the glutamylase TTLL6 in colon homeostasis and pathology**

Vanessa Pires, Valérie Pinet, Michael Hahne

Cancer and Inflammation -Michael HAHNE lab  
Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier CNRS UMR5535,  
1919 route de Mende  
34293 Montpellier cedex 5,  
France

### **Abstract**

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer and the second with higher mortality worldwide. It is frequently diagnosed in late stages of tumour growth, characterized by decreased therapeutic response and drug resistance, reducing treatment efficiency. Tubulin targeting drugs are commonly used for treatment of solid tumours, except CRC. Tubulin tyrosine ligase-like enzymes (TTLL) are responsible for the majority of tubulin post-translational modifications, conferring functional diversity to microtubules. We identified the glutamylase TTLL6 as a good prognosis factor in CRC patients. Moreover, colorectal tumours have reduced *TTLL6* transcript levels and high levels of *TTLL6* transcript correlated with a better prognosis in CRC patients. However, the role of TTLL6 in colon homeostasis and CRC progression remains elusive. In mice, we found that TTLL6 is exclusively expressed in colon epithelial cells (CEC) and regulates crypt morphology. *Ttll6-deficient* mice presented elongated transverse colonic crypts, increased epithelial cell proliferation as well as increased number of goblet cells. Finally, we evaluated the impact of *Ttll6-deficient* CEC in colitis-associated colon carcinogenesis and observed a dual phenotype: deletion of *Ttll6* during early tumorigenic stages decreased tumour number and size, whereas deletion during late stages increased tumour number and size. Our findings suggest that TTLL6 glutamylase is required not only for normal colon homeostasis but also for CRC development, possibly modulating cell proliferation and fate.

**Key words:** microtubules, post-translational modification, TTLL6, CRC

## Effets d'une supplémentation en Lactobacillales dans un modèle murin de syndrome de grêle court (SGC)

**A. Garrigues** ; N. Pourtier ; ; A. Dumay ; L. Ribeiro ; I. Savary-Auzeloux ; A. Bado ; N. Kapel ; M. Le Gall ; M. Thomas ; J. Le Beyec - Le Bihan

Centre de Recherche sur l'Inflammation (CRI), 16 Rue Henri Huchard, 75018 Paris

Le syndrome de grêle court (SGC) résulte d'une résection étendue de l'intestin, entraînant une insuffisance intestinale. Le microbiote des sujets SGC est très enrichi en *Lactobacillales*. Ce "lactobiote" serait un acteur des adaptations spontanées observées au cours du SGC. Notre objectif est de tester l'effet d'une supplémentation par des souches bactériennes issues du microbiote SGC sur l'adaptation intestinale de rats SGC.

Des rats mâles Wistar avec résection étendue de l'intestin, du caecum et colectomie partielle ont été supplémentés ou non pendant 28 jours par une souche A ou B, et comparés à des rats non traités (SGC ou SHAM). Le poids, la prise alimentaire, l'aspect des fèces ont été suivis quotidiennement. A la fin de l'étude, le transit intestinal a été évalué avec du rouge carmin puis des prélèvements de tissus intestinaux et de fèces ont été effectués pour des analyses morphométriques, d'expression géniques et de microbiote .

La prise alimentaire a augmenté pour tous les rats SGC par rapport aux SHAM. Les rats SGC ont présenté une diarrhée importante, réduite chez les rats supplémentés par probiotique. La supplémentation semble ralentir l'accélération du temps de transit observée chez les rats SGC contrôles par rapport aux SHAM. L'épaisseur de la musculature jéjunale augmentée chez les rats SGC, est plus importante chez les rats SGC supplémentés. La composition du *Lactobiote* n'est pas modifiée entre les rats SGC supplémentés ou non.

La supplémentation avec des souches aurait un effet bénéfique sur l'état général des rats SGC. L'impact de ces souches sur les acteurs moléculaires de la santé digestive de ces rats est en cours d'analyse.

**Mots clé** : Syndrome de grêle court, Microbiote, Probiotiques, Adaptations intestinales

**Role of the protein tyrosine kinase 7 (PTK7) receptor-expressing fibroblasts in colon homeostasis and pathologies**

Chloé Pangault<sup>1</sup>, Monica Gabola<sup>1</sup>, Anja Bosnjak<sup>1</sup>, Quentin DaCosta<sup>3</sup>, Emilie Denicolai<sup>3</sup>, Rossano Lattanzio<sup>2</sup>, Emilie Mamessier<sup>3</sup>, Bénédicte Lemmers<sup>1</sup>, Michael Hahne<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, Université de Montpellier, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Montpellier, France.

<sup>2</sup> Department of Medical, Oral and Biotechnological Sciences, "G. d'Annunzio" University, Chieti, Italy.

<sup>3</sup> Predictive Oncology Laboratory, Cancer Research Center of Marseille (CRCM), INSERM, U1068, CNRS, UMR7258, Institut Paoli-Calmettes, Aix Marseille Université, Marseille, France.

Colorectal cancer (CRC) is the second most common cause of cancer death. Moreover, the majority of patients will relapse upon treatment, highlighting the need to develop novel biomarker-guided therapeutic approaches. Our team identified **the protein tyrosine kinase 7 (PTK7) receptor**, involved in the regulation of canonical and non-canonical WNT pathway (Planar Cell Polarity signaling), **as a novel player in the biology of colonic fibroblasts**. A targeted antibody-drug conjugate (ADC) directed against PTK7 (phase II clinical trial) demonstrated therapeutic activity in patients with ovarian cancer, non-small cell lung cancer, or triple-negative breast cancer and the tumor promoting role of PTK7 has been so far uniquely associated with its elevated expression levels in epithelial tumor cells. However, we identified three staining patterns for PTK7 in biopsies of CRC patients, *i.e.* prominent in either tumoral epithelium or stroma, or in both cellular compartments. Besides, **in steady state, PTK7 is not only expressed by colonic epithelial stem cells but also fibroblasts** including collagen VI-positive fibroblasts. We therefore generated *ColVICrePtk7<sup>fl/fl</sup>* mice which display no overt alteration of colonic architecture but altered composition of fibroblast subpopulations. Moreover, RNAseq analysis of colonic epithelial cells (CEC) of *ColVICrePtk7<sup>fl/fl</sup>* and control mice revealed an upregulation of the oncogenes Notch and c-Myc in *Ptk7*-deficient animals. This analysis also predicted higher sensitivity of the *ColVICrePtk7<sup>fl/fl</sup>* mice to colitis which was confirmed using a mouse model recapitulating human ulcerative colitis. **Together, Ptk7 deregulation in collagen VI-expressing colonic fibroblasts affects the stem cell compartment of CECs to lay a favorable basis for their neoplastic transformation.**

Key words: PTK7 (protein tyrosine kinase 7), fibroblasts, colorectal cancer, acute colitis, CAC (colitis-associated colorectal cancer).

**Modulation des cellules entéroendocrines par le microbiote intestinal**

POLVÉ Delphine, RIBES Sandy, Claudia BEVILACQUA, CASTELLI Florence, CADIOU Julie, DOUARD Véronique, LARRAUFIE Pierre

Institut Micalis, Université Paris-Saclay – INRAE – AgroParisTech, Bâtiment 442  
domaine de Vilvert 78350 Jouy-en-Josas.

Mots clés : Microbiote intestinal ; hormones intestinales ; cellules entéroendocrines

Les cellules entéroendocrines (CEEs) sont des acteurs clés de l'épithélium intestinal par leur capacité à produire et sécréter les hormones intestinales en réponse aux changements de leur environnement. Ces hormones jouent un rôle primordial dans le métabolisme énergétique, la digestion et le transit intestinal, fonctions altérées dans de nombreuses pathologies également associées à un déséquilibre du microbiote intestinal. Différentes populations de CEEs peuvent être distinguées le long du tractus intestinal, en lien avec des variations d'environnement microbien. Un lien fort entre microbiote intestinal et CEEs est mis en avant par la dérégulation des niveaux circulants de certaines hormones intestinales chez les souris axéniques.

Pour comprendre le rôle du microbiote dans la régulation des CEEs, des souris avec un microbiote non altéré ont été comparées à des souris traitées par antibiothérapie à spectre large. La présence de microbiote conduit à une forte diminution des niveaux de GLP-1 circulant, ainsi qu'à des modifications d'expression génique de certaines hormones intestinales dans certaines régions intestinales. Afin de distinguer la réponse spécifique des CEEs, ces cellules ont été triées en utilisant des souris exprimant une protéine fluorescente dans les CEEs. En plus des variations d'expression de gènes codant pour les hormones intestinales, l'analyse transcriptomique révèle des altérations du métabolisme énergétique de ces cellules et notamment de la phosphorylation oxydative par le microbiote intestinal. Ces observations suggèrent que, outre les mécanismes connus, la régulation métabolique intrinsèque des CEEs pourrait impacter leurs fonctions et ouvrent ainsi sur de nouvelles stratégies pour réguler les fonctions des CEEs.

### **Bacterial genotoxins promote the formation of invadosomes**

Mariana Saraiva<sup>1</sup>, Lamia Azzi-Martin<sup>1,2</sup>, Amina Boukhobza<sup>1</sup>, Mélanie Moreau<sup>1</sup>, Ruxue Jia<sup>1</sup>, Pierre Dubus<sup>1,2,3</sup>, Christine Varon<sup>1,2</sup>, Frédéric Saltel<sup>1</sup>, Armelle Ménard<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> BRIC (BoRdeaux Institute of onCology), UMR1312, INSERM, Univ. Bordeaux, F-33000, Bordeaux, France

<sup>2</sup> Univ. Bordeaux, UFR des Sciences Médicales, 33076 Bordeaux, France.

<sup>3</sup> CHU de Bordeaux, Institut de Pathologie et de Biologie du Cancer, Bordeaux, France

We are frequently exposed to bacterial genotoxins, such as Cytolethal Distending Toxin (CDT) and colibactin, produced by bacteria from the microbiota. These genotoxins cause DNA damage, a well-known risk factor for carcinogenesis, along with stress fiber formation and deep cytoskeleton remodeling. We observed circular F-actin structures following exposure to bacterial genotoxins that may correspond to invadosomes, whose ability to degrade extra cellular matrix (ECM) contributes to invasion and metastasis. In this study, we investigated the invadosome formation in response to bacterial genotoxins *in vitro*.

The staining of invadosomes' markers in hepatic and intestinal cell lines infected with genotoxin-producing bacteria, allowed the confirmation of invadosomes. The increase in invadosome formation was dependent on the CDT and colibactin, as it was not observed in non-infected cells and in cells infected with the corresponding mutant strains invalidated for these toxins. ECM degradation was increased following exposure to these genotoxins. Similar results were observed when using transgenic cell lines expressing the CdtB catalytic subunit of CDT, as well as with DNA-damaging agents (Etoposide and Streptozocin), suggesting that DNA damage leads to invadosome formation and ECM degradation. In response to CdtB, a global kinase activity analysis revealed the activation of Src-family kinases, crucial in invadosome formation, which was corroborated using the Src-family kinases inhibitor PP2.

Overall, these data show that the genotoxic stress induced by bacterial genotoxins leads to invadosomes formation and ECM degradation, suggesting that chronic and/or repeated exposure to genotoxin-producing bacteria is implicated in cancer progression.

Keywords: cancer, DNA damage, invadosomes, CDT, colibactin

**Titre :** Impact du 5-Fluorouracil sur la plasticité cellulaire

**Auteurs :** Mounira CHALABI, Olivia VILLERONCE, Laura JENTSCHEL, Jihane VITRE, Lucile BANSARD, Anne VINCENT, Nicole DALLA-VENEZIA, Jean-Jacques DIAZ et Julie PANNEQUIN

**Nom et Adresse du labo :**

Institut de Génomique Fonctionnelle  
141 rue de la Cardonille  
34000 Montpellier

**Résumé :**

Le 5-Fluorouracil (5-FU), un agent utilisé dans toutes les combinaisons de chimiothérapies pour le cancer colorectal (CCR) ainsi que dans de nombreux autres cancers, est souvent associé à une résistance et par conséquent à une récurrence tumorale. En effet, près de la moitié des patients atteints de CCR récidivent dans les 5 ans qui suivent leur prise en charge.

Étonnamment, pour l'une des chimiothérapies les plus anciennes et parmi les plus largement utilisées, certains aspects de son mode d'action restent à être décryptés en détail.

Ainsi, au cours des dernières années, notre équipe en collaboration avec l'équipe du Dr. Jean-Jacques Diaz du Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, a révélé la capacité du 5-FU à s'intégrer dans l'ARN ribosomique, entraînant une traduction drastiquement modifiée. En effet, les ribosomes continuent à produire des protéines, mais seulement celles potentiellement cruciales pour la survie des cellules.

En effet, nous avons démontré que cette traduction modifiée induisait une reprogrammation cellulaire vers un phénotype pluripotent permettant aux cellules de survivre. Cette étude est une preuve de concept et seulement la partie émergée de l'iceberg, puisque le séquençage de l'ARN à l'échelle de la cellule unique avant et après traitements a révélé la présence d'une dizaine de sous-populations.

Notre étude met en lumière la réponse et l'adaptation des cellules au 5-FU. Ces découvertes soulignent la nature complexe des réponses cellulaires au 5-FU et pourraient contribuer à une compréhension plus approfondie de la plasticité tumorale et de la résistance aux traitements.

**Mots clés :** Cancer Colorectal, Plasticité tumorale, Résistance, 5-Fluorouracil

## **Impact de l'exposition périnatale aux nano-plastiques sur les maladies inflammatoires de l'intestin et les réactions alimentaires indésirables chez la progéniture des souris**

Melvin Airaud<sup>1</sup>, Amandine Roldan<sup>1</sup>, Jeanne Le Cléac'h<sup>1</sup>, Marie Carrière<sup>2</sup>, Frédérick Barreau<sup>1\*#</sup>, Sandrine Ménard<sup>1\*#</sup>

<sup>1</sup>IRSD, University of Toulouse, INSERM, INRAE, ENVT, UPS, Toulouse, France.

<sup>2</sup>Univ. Grenoble-Alpes, CEA, CNRS, IRIG-SyMMES, CIBEST, Grenoble, France.

\* Equal contribution,

# co-corresponding authors

**Contexte** : Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) et les réactions alimentaires indésirables (RAI), sont en constante augmentation. La présence de nano-plastiques (NP) dans l'alimentation questionne leurs conséquences sur la survenue de ces pathologies lors d'une exposition périnatale (concept des Origines Développementales de la Santé et des Maladies).

**Méthodes** : Des souris femelles ont été gavées quotidiennement avec 1,25 mg de PS50 (polystyrène 50 nm) du 15e jour de gestation au sevrage des petits (jour post-natal PND21). Pour les RAI, la tolérance orale a été induite au PND15 avec de l'ovalbumine (OVA). Pour les MICI, une colite a été induite par ajout de DSS (dextran sulfate sodium) à 3% dans l'eau de boisson pendant cinq jours. Après deux jours de remise en eau, les animaux ont été sacrifiés. La sévérité de la colite a été mesurée quotidiennement par l'indice d'activité de la maladie et par l'établissement des scores macroscopiques au sacrifice.

**Résultats** : L'exposition périnatale au PS50 n'a pas induit de RAI à l'OVA, que ce soit pour les IgG1 ou les IgG2a, mais a aggravé la colite dans les deux sexes. En effet, les scores macroscopiques, incluant la longueur, l'épaisseur du colon, la taille de l'œdème, et l'adhérence étaient d'avantages altérés chez les souris exposées au PS50 versus les contrôles.

**Conclusion** : Ces travaux montrent la persistance des effets délétères de l'exposition périnatale au PS50 sur l'inflammation digestive, chez l'adulte. Ces résultats suggèrent le développement d'une « empreinte pathologique intestinale » induite par l'exposition périnatale aux PS50.

## **Développement d'une méthode de criblage de nanoparticules à visée thérapeutique en oncologie**

Auriane de Pellegars<sup>1</sup>, Fabien Granier<sup>2</sup>, Sébastien Marie<sup>2</sup>, Laurence Picque-Lasorsa<sup>1</sup>, Zahra Al Amir Dache<sup>1</sup>, Thibault Mazard<sup>1</sup>, Laurent Garrelly<sup>2</sup>, and Corinne Prévostel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>: Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier (IRCM), Inserm U1194, Université de Montpellier, Institut Régional du Cancer de Montpellier (ICM), 34298 cedex 5 Montpellier, France

<sup>2</sup>: COLCOM, 34830 Clapiers, France; FGHI, 34830 Clapiers, France

Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier (U1194), 208 avenue des Apothicaires, 34298 Montpellier cedex 5

La prise en charge du cancer colorectal (CRC) se heurte actuellement à deux problématiques majeures : la toxicité des traitements due à une absence de ciblage sélectif de la tumeur et le nombre limité d'alternatives thérapeutiques. De plus, les anticancéreux sont souvent hydrophobes ce qui réduit considérablement leur biocompatibilité et leur biodisponibilité au niveau de la tumeur. Pour surmonter ces limitations, une stratégie prometteuse est de développer des nanoparticules capables de délivrer sélectivement des concentrations plus efficaces d'anticancéreux dans le CRC. Dans ce contexte, les Dendrigrfts de Poly-L-lysine (DGLs) combinent de nombreux atouts pour la nanomédecine : une non-immunogénicité, une bonne capacité de fonctionnalisation par des systèmes d'encapsulation de médicaments et/ou de ciblage actif des cellules/tissus d'intérêt, une multiplicité de voies d'administration. Afin de cribler des DGLs candidats, nous avons développé une méthodologie de criblage permettant d'évaluer leur cytotoxicité et leur capacité de pénétration intracellulaire. Nous avons observé que les DGLs natifs (non fonctionnalisés): 1- sont cytotoxiques à des concentrations comparables à celles d'autres dendrimères utilisés en nanomédecine (à partir de 100nM et > à 1µm), 2- pénètrent rapidement dans les cellules cancéreuses (dans les 5 minutes) via un processus d'endocytose dépendant de la clathrine ; 3- sont significativement moins toxiques en présence de sérum. Les données obtenues indiquent que les DGLs natifs offrent une marge de sécurité suffisante pour développer des DGLs fonctionnalisés à visée thérapeutique. Au-delà, la méthodologie développée permet de cribler des DGLs fonctionnalisés combinant une faible toxicité, une nanovectorisation efficace d'anticancéreux hydrophobes et un ciblage sélectif de la tumeur.

Mots Clés : nanovecteur, Dendrigrft de poly-L-lysine (DGL), cancer colorectal, thérapie

**Titre :**

Un puissant PROTAC basé sur un agoniste cible le récepteur Pregnane X et retarde la récurrence dans le cancer du côlon.

**Auteurs :**

Lucile Bansard\*, Guillaume Laconde\*, Vanessa Delfosse, Margaux Ayeul, Emilie Rigal, Sabine Gerbal-Chaloin, Martine Daujat-Chavanieu, Anthony Martin, Alain Chanavieu, Julie Pannequin, William Bourguet, Muriel Amblard<sup>§</sup>, Jean Marc Pascussi<sup>§</sup>

**Laboratoire :**

Institut de génomique fonctionnelle

141, rue de la Cardonille

34094 Montpellier cedex 5

Equipe : « Signalisation, Plasticité et cancer » dirigée par Julie Pannequin

**Résumé :**

Le cancer colorectal est le deuxième cancer le plus mortel dont la récurrence tumorale survient chez plus de 30% des patients lorsque le stade de la maladie est avancé. Cette récurrence tumorale est souvent attribuée aux cellules souches cancéreuses. Par des approches génétiques, nous avons précédemment montré que l'inhibition du récepteur Pregnane X (PXR, NR1I2) diminue la chimiorésistance des CSCs et retarde la récurrence du cancer colorectal dans des modèles de souris xénotransgéniques. Dans cette étude, nous rapportons pour la première fois, la conception et la synthèse d'un PROTAC (JMV7048) basé sur un agoniste de PXR qui induit la polyubiquitination et la dégradation de PXR humain de manière dépendante de l'ubiquitine ligase E3 CRBN et du protéasome 26S. JMV7048 dégrade spécifiquement PXR dans les lignées cellulaires cancéreuses du côlon, du foie et du pancréas. Nous avons remarqué que le JMV7048 ne dégrade pas PXR dans les cultures primaires d'hépatocytes humains, ce PROTAC montre donc un effet cancer spécifique. De manière cruciale, le JMV7048 dégrade PXR dans les CSCs coliques et les sensibilise à la chimiothérapie. JMV7048 dégrade PXR et retarde également de manière significative la récurrence dans un modèle de tumeurs xénotransgéniques lorsqu'il est associé à un traitement de chimiothérapie classique pour traiter les patients avec un cancer colorectal. Le PROTAC ciblant la protéine PXR pourrait ainsi devenir un nouvel agent thérapeutique adjuvant, afin d'améliorer l'efficacité des chimiothérapies envers les cellules souches cancéreuses et de retarder ou empêcher la récurrence tumorale.

**Mots clés :**

PROTAC, PXR, Cancer du côlon, récurrence tumorale

### **Rôle des cellules tuft dans le contrôle de l'équilibre microbiote- épithélium intestinal-immunité dans un modèle de prédisposition à la maladie de Crohn.**

Ali Lamrani, Fabien Herbert, Imène Gasmi, Nathalie Coutry\* et Philippe Jay\*.

\* Contribution égale.

Institut de Génomique Fonctionnelle, Equipe de Philippe Jay, 141 rue de la cardonille, 34000 Montpellier.

Le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie intestinale. Des perturbations dans sa composition, ou dysbiose, peuvent conduire à des dysfonctionnements immunitaires et à des altérations de la barrière intestinale, créant ainsi un terrain propice au développement de maladies inflammatoires de l'intestin. Ainsi, une dysbiose contribue au développement et à la sévérité de la maladie de Crohn (MC). Toutefois, les mécanismes altérés dans la communication microbiote/hôte conduisant à la dysbiose et l'inflammation restent partiellement compris.

Nous proposons d'étudier cette question à l'aide d'un modèle murin de prédisposition à la MC : *Atg16l1<sup>LoxP/LoxP</sup>; Villin-Cre*, dans lequel le gène de prédisposition *Atg16L1* est délété dans les cellules épithéliales intestinales. Notre intérêt se focalise sur l'implication des cellules tuft dans le contrôle de l'équilibre microbiote-épithélium intestinal-immunité, puisqu'elles jouent un rôle majeur dans le contrôle de l'immunité intestinale et dans l'établissement de la dysbiose.

Nos données préliminaires indiquent une augmentation significative de marqueurs de l'immunité de type 2 chez les souris déficientes en *Atg16L1* (hyperplasie des cellules tuft et des cellules à mucus, accompagnée d'une augmentation des cellules ILC2), qui dépend de la présence des cellules tuft (modèle *Atg16l1<sup>LoxP/LoxP</sup>; Villin-Cre; Pou2f3<sup>-/-</sup>*). Des analyses anatomo-pathologiques révèlent que l'inflammation transmurale caractéristique de notre modèle est absente suite à la déficience en cellules tuft. Une analyse métagénomique du microbiote est en cours à différents temps de cinétique en présence et en absence de cellules tuft, afin d'évaluer la progression des altérations du microbiote et la contribution des cellules tuft.

À terme, notre travail offrira une vision approfondie des premières altérations dans la communication microbiote/hôte dans un contexte d'inflammation transmurale, en mettant particulièrement l'accent sur l'implication des cellules tuft.

Mots clés : Microbiote ; Dysbiose ; Inflammation transmurale ; Maladie de Crohn ; Cellules tuft.

## RÉSUMÉ CECED 2024

**Titre :** Implication d'une molécule du quorum sensing bactérien dans l'inflammation et la fonction de barrière intestinale au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

**Auteurs :** Raphaëlle Liquard<sup>1</sup>, Khadija Oukacha<sup>1, 2</sup>, Philippe Seksik<sup>1</sup>, Véronique Carrière<sup>1</sup>, Nathalie Sauvonnnet<sup>2</sup>, Sophie Thenet<sup>1, 3</sup>

**Nom et adresse du laboratoire :** <sup>1</sup>Centre de Recherche Saint-Antoine UMRS 938, Équipe Seksik/Sokol « Microbiote, Intestin et Inflammation », 27 rue Chaligny, 75012 Paris ; <sup>2</sup>Groupe Homéostasie tissulaire, plateforme Biomatériaux et Microfluidique, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, Paris ; <sup>3</sup>EPHE, Université PSL, F-75014 Paris

**Résumé :** (environ 250 mots)

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont caractérisées par une altération de la barrière intestinale et une réponse immunitaire excessive au microbiote. Certains métabolites bactériens ont été impliqués dans le maintien de la barrière épithéliale intestinale. Notre équipe a découvert la présence de plusieurs molécules du *quorum sensing* de la famille des N-acyl-homosérine-lactones (AHL) dans l'écosystème intestinal humain et montré que la plus abondante, la 3-oxo-C12:2-HSL, est perdue chez les patients atteints de MICI, suggérant un rôle bénéfique de cette AHL. La 3-oxo-C12:2-HSL présente des propriétés anti-inflammatoires sur les cellules immunitaires par l'intermédiaire notamment d'un récepteur du goût amer (TAS2R). Elle exerce également un rôle protecteur sur l'intégrité des jonctions serrées dans les cellules épithéliales intestinales en condition inflammatoire mais le mode d'action reste inconnu.

Notre objectif est d'évaluer l'implication de récepteurs du goût amer dans les effets protecteurs de la 3-oxo-C12:2-HSL sur la fonction de barrière dans les cellules épithéliales intestinales.

Nos résultats montrent que la 3-oxo-C12:2-HSL atténue l'hyperperméabilité paracellulaire et la sécrétion de la chimiokine MCP-1 induites par les cytokines pro-inflammatoires (IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$ ) dans les cellules Caco-2/TC7, confirmant un rôle protecteur sur la barrière épithéliale. Parmi les TAS2Rs pouvant être activés par la 3-oxo-C12:2-HSL, nous montrons que TAS2R13 est l'un des plus exprimés dans les cellules Caco-2/TC7 et dans des tissus intestinaux humains normaux. Nos premiers résultats avec une approche siARN montrent que TAS2R13 semble être impliqué dans l'effet de l'AHL sur le maintien des jonctions serrées en condition inflammatoire.

Ce projet permet d'approfondir les connaissances sur l'impact d'une molécule du quorum sensing bactérien sur la fonction de barrière intestinale dans le contexte des MICI.

**Mots clés :** Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, barrière intestinale, quorum sensing, récepteurs du goût amer, jonctions serrées.

## Étude du rôle des effecteurs de la voie Hippo, YAP et TAZ, dans le cancer gastrique

Recherlik S., Gaiddon C., Mellitzer G., Masson M.

Université de Strasbourg, UMR\_S1260 Inserm, RNM, Equipe HERIT

### Introduction

Le cancer gastrique (CG) est un cancer fréquent (environ 1 millions de cas/an dans le monde) et particulièrement agressif avec une survie à 5 ans inférieure à 25%. Cette agressivité est liée à un diagnostic tardif et une résistance aux chimiothérapies classiques. La voie de signalisation Hippo est très souvent dérégulée dans les CG, conduisant à une suractivation de ses effecteurs YAP/TAZ, qui sont des co-activateurs transcriptionnels. Pour comprendre le rôle de YAP/TAZ dans les CG, l'expression de YAP ou de TAZ a été diminuée dans une lignée de CG et une analyse transcriptomique par RNAseq a été réalisée. L'analyse des gènes dérégulés indique que YAP/TAZ pourraient être impliqués dans la réponse au stress intégré (ISR), une voie de signalisation permettant à la cellule de s'adapter à des stress tels que l'accumulation de protéines non-repliées, l'hypoxie ou la privation en acides aminés. Cette voie de signalisation ISR peut conduire à la survie ou à la mort programmée de la cellule par des mécanismes d'autophagie, d'apoptose ou de ferroptose.

### Objectifs

Le premier objectif est d'étudier les conséquences de l'extinction de YAP/TAZ sur la prolifération des différentes lignées de CG. Le second objectif est de préciser le rôle de YAP et TAZ dans la réponse au stress intégré. Pour finir, le troisième objectif est de déterminer l'impact de YAP/TAZ sur la sensibilité des lignées GC à différents traitements (Oxaliplatine, 5-FU, Sorafenib, Verteporfin...).

### Matériel et méthodes

Les lignées AGS, MKN-74 et SK-GT-2 sont des lignées de CG, qui expriment toutes YAP et TAZ mais à un niveau variable. L'extinction de l'expression de YAP et/ou de TAZ est réalisée avec des siRNA spécifiques. L'expression des gènes est analysée au niveau ARNm par RT-qPCR et au niveau protéique par Western-blot. La viabilité et la prolifération cellulaires sont évaluées par des essais CCK8, des mesures de l'incorporation de l'EdU et des mesures de la confluence en fonction du temps à l'aide d'un appareil Incucyte. L'apoptose est analysée par le clivage de la PARP-1 et/ou le clivage de la caspase-3.

### Résultats

L'extinction de YAP conduit à une diminution modérée de la prolifération des cellules AGS alors que l'extinction de TAZ n'a aucun effet. De manière intéressante, l'extinction de YAP conduit à une forte expression de TAZ au niveau protéique suggérant un mécanisme de compensation. De plus, l'extinction simultanée de YAP et de TAZ diminue fortement la prolifération des cellules AGS et MKN74, contrairement aux cellules SK-GT-2. Dans les cellules AGS éteintes pour YAP et TAZ, on observe un clivage de la PARP-1, témoignant de l'induction de l'apoptose. Dans les cellules AGS, l'extinction de YAP ou de YAP/TAZ diminue fortement l'expression de la protéine ATF4, un effecteur clé de la voie ISR. Au niveau transcriptionnel, l'extinction de YAP ou de YAP/TAZ diminue l'expression des gènes en aval de ATF4 (*ATF3*, *DDIT4*, *CHAC1*...).

### Discussion

Nos résultats montrent que YAP/TAZ ont un rôle pro-prolifératif dans certaines lignées de cancer gastrique, et qu'ils sont impliqués dans la réponse au stress intégré, ce qui en fait des cibles thérapeutiques prometteuses.

**Mots clefs** : Cancer gastrique, voie Hippo, YAP/TAZ, réponse au stress intégré, chimiothérapie

**High glucose exposure drives intestinal barrier dysfunction by altering its morphological, structural and functional properties**

Nolwenn Dubois<sup>b</sup>, Javier Muñoz-Garcia<sup>a, b</sup>, Dominique Heymann<sup>a, b</sup> and Axelle Renodon-Cornière<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> Nantes Université, CNRS, US2B, UMR 6286, F-44322 Nantes, France.

<sup>b</sup> Institut de Cancérologie de l'Ouest, Tumor Heterogeneity and Precision Medicine Laboratory, 44805 Saint-Herblain, France.

**ABSTRACT**

High dietary glucose consumption and hyperglycemia can result in chronic complications. Several studies suggest that high glucose (HG) induces dysfunction of the intestinal barrier. However, the precise changes remain unclear. In our study, we used *in vitro* models composed of Caco-2 and/or HT29-MTX cells in both monoculture and co-culture to assess the effects of long-term HG exposure on the morphological, structural, and functional properties of the intestinal barrier. Cells were grown in medium containing normal physiologic glucose (NG, 5.5 mM) or a clinically relevant HG (25 mM) concentration until 21 days. Results demonstrated that HG induced morphological changes, with the layers appearing denser and less organized than under physiological conditions, which is in accordance with the increased migration capacity of Caco-2 cells and proliferation properties of HT29-MTX cells. Although we mostly observed a small decrease in mRNA and protein expressions of three junction proteins (ZO-1, OCLN and E-cad) in both Caco-2 and HT29-MTX cells cultured in HG medium, confocal microscopy showed that HG induced a remarkable reduction in their immunofluorescence intensity, triggering disruption of their associated structural network. In addition, we highlighted that HG affected different functionalities (permeability, mucus production and alkaline phosphatase activity) of monolayers with Caco-2 and HT29-MTX cells. Interestingly, these alterations were stronger in co-culture than in monoculture, suggesting a cross-relationship between enterocytes and goblet cells. Controlling hyperglycemia remains a major therapeutical method for reducing damage to the intestinal barrier and improving therapies.

**KEYWORDS:** high glucose, *in vitro* models, intestinal barrier function; intercellular junction proteins, colorectal cancer.

## Mécanisme de la dissémination précoce dans le cancer colorectal, et validation chez les patients

Tinhinane Lahlou<sup>1\*</sup>, Zeinab Homayed<sup>1\*</sup>, Guillaume Belthier<sup>1</sup>, François Gerbe<sup>1</sup>, Philippe Jay<sup>1</sup>, Jean-François Bourgaux<sup>2</sup>, Andrei Turtoi<sup>3</sup>, Frederic Lagarrigue<sup>4</sup> and Julie Pannequin<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> IGF, Univ. Montpellier, CNRS, INSERM, Montpellier, France

<sup>2</sup> Service d'Hépatogastroentérologie, CHU Carémieu, Nîmes, France

<sup>3</sup> Cancer Research Institute of Montpellier, INSERM U1194, Montpellier, France

<sup>4</sup> IPBS - CNRS UMR5089, Toulouse, France

**Contexte** : Une grande partie de la mortalité attribuée au cancer est due aux métastases ; cependant, les mécanismes impliqués demeurent peu compris. La littérature décrit principalement les stades avancés de la tumorigénèse, ignorant la dissémination précoce et en particulier dans le cancer colorectal. Pour pallier ce manque, nous avons créé un modèle murin inductible dans lequel les cellules de l'épithélium intestinal sont spécifiquement marquées avec la protéine fluorescente TdTomato, et simultanément, la tumorigénèse intestinale est induite par une mutation du gène APC, ce qui initie la tumorigénèse intestinale.

Ce modèle a permis de détecter des cellules disséminées précocement (eDTC) dans le foie, organe distant de prédilection des métastases du cancer colorectal. De plus, on a pu démontrer que ces cellules, en synergie avec des facteurs systémiques tels que TIMP1, TNF- $\alpha$ , SDF-1, CXCL2 et M-CSF, induisaient un remodelage hépatique qui se caractérise par un enrichissement en cellules myéloïdes plus précisément en macrophages et neutrophiles augmentant la perméabilité de cet organe aux cellules initiatrices de métastases plus tardives.

**Objectifs** : Nos objectifs sont de déchiffrer les mécanismes expliquant l'enrichissement en cellules myéloïdes, en particulier les macrophages, en réponse à la dissémination précoce, et de valider certains de nos résultats sur des échantillons sanguins de patients porteurs de polypes intestinaux.

**Matériels et méthodes** : Pour élucider les mécanismes impliqués dans le recrutement des macrophages enrichis dans le foie, nous avons mis en place un modèle *ex vivo* de co-culture. Ce modèle consiste à utiliser des cellules de polypes intestinaux purifiées provenant des souris possédant une mutation sur le gène APC, injectées dans des explants de foie en présence de macrophages dérivés de progéniteur myéloïde HoxB8. La migration des macrophages est évaluée par une énumération, et l'identification des facteurs sécrétés est réalisée par spectrométrie de masse.

En parallèle, à partir d'échantillons sanguins de patients porteurs de polypes intestinaux, nous mettons en œuvre une déplétion des cellules exprimant CD45 afin d'isoler et de maintenir la survie des cellules tumorales circulantes à des stades précoces. La caractérisation de ces cellules est ensuite réalisée par séquençage de l'ARN. Enfin, le profil cytokinique des plasmas des patients est établi à l'aide d'un test ELISA.

**Résultats** : Les macrophages dérivés de HoxB8 cultivés pendant 2 jours en présence d'explants de foie et de polypes intestinaux adoptent un état de polarisation mimant les macrophages dans le foie de souris avec une mutation sur APC. De plus, ces macrophages migrent fortement vers un foie dans lequel des cellules de polypes sont injectées par rapport à un foie normal. Par ailleurs, nous avons pu démontrer l'implication de TIMP1 dans le recrutement des macrophages. Pour la première fois, nous avons réussi

La réponse à l'IFN $\gamma$  dans les interactions tumeur/stroma d'un nouveau sous-type d'Adénocarcinome Pancréatique : traduction de peptides antigéniques et CAF présentateur d'Antigène

**Mehdi Liauzun<sup>1,2</sup>, Jacobo Solorzano<sup>1,2</sup>, Saueyun Shin<sup>1,2</sup>, Corinne Bousquet<sup>1,2</sup>, Yvan Martineau<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup>Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse (CRCT), INSERM U1037, Université Toulouse III Paul Sabatier, ERL5294 CNRS, Toulouse, France. <sup>2</sup>Equipe labellisée Ligue Contre Le Cancer.

## **Cancer du pancreas, microenvironnement tumoral, Traduction des ARNm, métabolisme, IFN $\gamma$**

L'adénocarcinome canalaire pancréatique (APC), quatrième cause de décès par cancer dans les pays industrialisés, présente de nombreuses altérations de la traduction de l'ARNm à la fois dans les cellules cancéreuses de l'APC et dans leur microenvironnement, ce qui favorise la croissance de la tumeur. Dans le but d'améliorer la prise en charge des patients atteints de PDAC, nous avons développé une approche de classification basée sur le profilage translatomique afin d'identifier de nouveaux sous-types de tumeurs. Ainsi, nous avons identifié un sous-type de tumeur distinct caractérisé par une activation de la réponse intégrée au stress liée à une forte résistance aux chimiothérapies et à une auxotrophie à la sérine. De plus, la croissance de ce sous-type, nommé ISR-activated, est sous la dépendance métabolique des CAF du microenvironnement produisant de la sérine pour soutenir sa prolifération. Nous souhaitons donc décoder davantage les relations entre ce sous-type et son microenvironnement.

L'analyse bioinformatique des compartiments tumoraux et stromaux des xénogreffes dérivées de patients PDA (PDX) a mis en lumière des échanges de cytokines, impliquant l'IL-18 et l'IFN $\gamma$ , entre les cellules tumorales et le compartiment immunitaire. En effet, les cellules tumorales ISR-activated présentent une expression, une production et une sécrétion significatives d'IL18, pouvant stimuler la production d'IFN $\gamma$  dans des populations immunitaires spécifiques du compartiment stromal (cellules T). En réponse à l'IFN $\gamma$ , les cellules tumorales favorisent l'expression de l'Indoleamine 2,3-DiOxygénase 1 (IDO1), qui convertit le tryptophane en kynurénine. De plus, il a été récemment rapporté que l'activité d'IDO1 pouvait induire des événements traduction aberrants des ARNm causée par une carence en tryptophane, un phénomène de décalage de cadre de lecture, appelé " sloppiness " dans d'autres cancers (Bartok et al. 2020, Champagne et al. 2021).

Le but de ce projet est d'analyser la réponse à l'IFN $\gamma$  liée au phénotype ISR-activated, à la fois dans les compartiments tumoraux et stromaux (y compris les CAFs). Nous visons à évaluer le rôle d'IDO1 dans le développement des tumeurs PDA et plus particulièrement ce mécanisme particulier de traduction en recherchant des événements de changement de cadre et sa relation avec l'immunité.