

Proposition de sujet de thèse
Ecole Doctorale Biologie Santé-Environnement (BioSE), Université de Lorraine

Titre : Recherche d'un nouveau biomarqueur prédictif et pronostique dans le cancer du sein
HER2+: la 3-O-sulfotransférase 3A (3-OST3A)
Acronyme : SulfoTher

Equipe d'accueil

UMR 7365 CNRS-Université de Lorraine, Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire (IMoPA)

Groupe MolCelTEG (Molecular and Cellular Therapeutic Engineering and Glycosyltransferases)
Biopôle de l'Université de Lorraine - Campus biologie-santé
Faculté de Médecine - 9, Avenue de la forêt de Haye - BP 50184 - 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy
Cedex

Résumé du projet de thèse

Le cancer du sein de sous-type HER2+ est une forme relativement rare (20% des cas), mais agressive de tumeur, majoritairement due à une amplification du récepteur HER2+ (*Epidermal Growth Factor Receptor 2*). Bien que les thérapies ciblées, notamment le trastuzumab (anticorps anti-HER2) ait donné des résultats intéressants, la résistance au traitement, les récurrences fréquentes et l'apparition de métastases constituent encore des enjeux majeurs pour la prise en charge de ce cancer.

L'objectif du projet proposé est d'identifier un marqueur robuste prédictif de l'agressivité des cancers du sein de type HER2+ et de la réponse au traitement par le trastuzumab et d'en comprendre le mécanisme. Spécifiquement, le projet vise : **1)** à valider la sulfotransférase 3-OST3A (une enzyme de maturation des héparane-sulfates, régulateurs majeurs des facteurs de croissance) comme biomarqueur de l'agressivité des cancers HER2+, **2)** à disséquer les mécanismes cellulaires et moléculaires de l'action pro-oncogénique de la 3-OST3A, spécifique de ce sous-type de tumeur.

Le projet combinera une étude clinique rétrospective et la validation d'un anticorps en vue de l'application de ce biomarqueur en clinique, et des approches de biologie cellulaire et moléculaire ciblées et non ciblées visant à d'établir les mécanismes d'activation du récepteur HER2 par les héparane-sulfates.

Le travail devrait apporter des résultats tangibles en clinique et devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes d'action des héparane-sulfates, composants majeurs du microenvironnement tumoral, dans la biologie du cancer.

Thématique

Etude du rôle des héparane-sulfates dans le cancer du sein, validation de leur caractère prédictif et pronostique dans le cancer du sein

Domaines

Biologie cellulaire et moléculaire, biochimie, glycobiologie, cancérologie

Objectifs

L'objectif du projet proposé est d'identifier un marqueur robuste prédictif de l'agressivité des cancers du sein de type HER2+ et de la réponse au traitement par le trastuzumab et d'en disséquer les mécanismes.

Spécifiquement, le projet vise :

1) à valider la sulfotransférase 3-OST3A (une enzyme de maturation des héparane-sulfates, régulateurs majeurs des facteurs de croissance au niveau du microenvironnement tumoral) comme biomarqueur de malignité des cancers HER2+ et à développer un anticorps permettant d'évaluer

l'expression de la 3-OST3A dans les tumeurs mammaires par immunocytochimie en vue d'une application clinique.

2) à disséquer les mécanismes de l'action pro-oncogénique de la 3-OST3A, spécifique de ce sous-type de tumeur et comprendre son rôle dans l'activation du récepteur HER2 au niveau des cellules mammaires par des approches cellulaires et moléculaires ciblées et non ciblées.

Contexte

Le cancer du sein de sous-type HER2+ est une forme agressive de cancer, majoritairement due à une amplification génique du récepteur HER2 (*Epidermal Growth Factor Receptor 2*). Il représente environ 20% des cancers du sein et est associé à un mauvais pronostic.

Les thérapies ciblées notamment, le trastuzumab (Herceptin®), anticorps monoclonal dirigé contre la partie extracellulaire de HER2, ont incontestablement amélioré la prise en charge de ce type de cancer. Cependant la résistance au traitement, les récurrences fréquentes et l'apparition de métastases restent des enjeux cliniques majeurs. Les mécanismes mis en jeu ne sont pas élucidés, et les cliniciens ne disposent pas de marqueur prédictif de l'évolution de la maladie et de l'efficacité du traitement.

Une étude réalisée par une précédente thésarde dans l'équipe d'accueil a montré que l'expression élevée de la 3-O-sulfotransférase 3A (3-OST3A), une enzyme de maturation terminale des chaînes d'héparane-sulfates, constituants majeurs du microenvironnement tumoral, est associée à un mauvais pronostic dans les cancers du sein de type HER2+. Ces résultats sont corroborés par des études in cellulo indiquant le caractère pro-oncogénique de la 3-OST3A sur le phénotype des cellules mammaires en culture. La 3-OST3A apparaît donc comme un marqueur spécifique prometteur permettant de prédire l'agressivité du cancer du sein de sous-type HER2. Cependant, les mécanismes par lesquels la 3-OST3A et les héparane-sulfates 3-O-sulfatés contribuent à la malignité des tumeurs HER2 nécessitent des investigations ultérieures.

Méthodologie

Deux axes de recherche sont proposés dans le projet de thèse :

AXE 1 : La 3-OST3A est-elle un biomarqueur prédictif de l'agressivité tumorale et influence-t-elle la réponse clinique au trastuzumab ?

Dans cet axe, le doctorant sera impliqué dans une **étude clinique rétrospective** en collaboration avec l'Institut de Cancérologie de Lorraine (ICL). Le doctorant devra contribuer à la mise au point d'une technique d'immunohistochimie afin d'évaluer le taux d'expression de la 3-OST3A en routine. Pour ce faire, il devra commencer par **valider un anticorps anti-3-OST3A** en réalisant des expériences de western blot et d'immunofluorescence sur cellules mammaires surexprimant (ou non) la 3-OST3A. La technique devra par la suite être optimisée à la détection de la 3-OST3A dans les coupes de tumeurs, puis à terme automatisée, avec l'aide du service d'anatomopathologie de l'ICL.

AXE 2 : Par quels mécanismes la 3-OST3A favorise-t-elle l'agressivité des tumeurs et comment module-t-elle la réponse cellulaire au trastuzumab ?

Cet axe met des techniques de biologie cellulaire pour l'étude de l'influence de la surexpression et de l'extinction de la 3-OST3A sur l'agressivité tumorale et sur la réponse au trastuzumab. Des tests cellulaires de prolifération, d'apoptose et de migration seront effectués sur les lignées tumorales mammaires HER2+ transfectées ou non par des ADNc ou des siRNA, traitées ou non par le trastuzumab. Le doctorant sera également en charge de l'identification des effecteurs et des voies de signalisation associées à l'action pro-oncogénique de la 3-OST3A dans les cellules tumorales mammaires HER2+. Cette partie met en œuvre des techniques de biologie cellulaire et de biochimie pour la réalisation d'études moléculaires sans a priori avec analyse (i) du **profil sécrétoire**, (ii) du profil de phosphorylation des **récepteurs** à activité tyrosine kinase et (iii) du profil de phosphorylation des **kinases** en utilisant des technologies de type *cytokine-/tyrosine kinase-*

/phosphoreceptor-Arrays. Cette approche sera complétée par une approche ciblée visant à étudier l'implication potentielle du FGF-7 (et de l'activation de son récepteur FGFR2IIIb) dans la transactivation du récepteur HER2, ou de nouveaux médiateurs identifiés par l'approche non ciblée par des techniques de biologie cellulaire et biochimie des protéines.

Résultats attendus

Le projet de thèse proposé devrait apporter des informations directement utiles du clinicien car il vise à prédire un risque de rechute et de résistance au trastuzumab en fonction de l'expression de la 3-OST3A et à développer ce biomarqueur en routine.

D'un point de vue fondamental, ce travail est également très innovant. Il renforce le concept du rôle majeur du microenvironnement tumoral dans le contrôle du comportement de la cellule cancéreuse. Notre équipe a été la première à montrer un rôle oncogénique de la 3-OST3A dans une lignée tumorale mammaire HER+ en relation avec l'altération de structure des HS dans les tumeurs mammaires. Le projet de thèse permettra de comprendre, au niveau moléculaire, les mécanismes d'interactions des HS-3-O-sulfatés avec les récepteurs HER2 et/ou d'autres récepteurs dépendant des HS, et de leurs ligands et apporter des avancées cognitives significatives.

Le travail devrait faire l'objet dans les délais impartis (3 ans) d'une publication dans une revue à comité de lecture à facteur d'impact élevé (JCI, Cancer Res ou Oncogene)

Références

- Bui, C., Ouzzine, M., Talhaoui, I., Sharp, S., Prydz, K., Coughtrie, M.W.H., and Fournel-Gigleux, S. (2010). Epigenetics: methylation-associated repression of heparan sulfate 3-O-sulfotransferase gene expression contributes to the invasive phenotype of H-EMC-SS chondrosarcoma cells. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **24**, 436–450.
- Fernández-Vega, I., García, O., Crespo, A., Castañón, S., Menéndez, P., Astudillo, A., and Quirós, L.M. (2013). Specific genes involved in synthesis and editing of heparan sulfate proteoglycans show altered expression patterns in breast cancer. *BMC Cancer* **13**, 24.
- Figueroa-Magalhães, M.C., Jelovac, D., Connolly, R., and Wolff, A.C. (2014). Treatment of HER2-positive breast cancer. *Breast Edinb. Scotl.* **23**, 128–136.
- Mao, X., Gauche, C., Coughtrie, M.W.H., Bui, C., Gulberti, S., Merhi-Soussi, F., Ramalanjaona, N., Bertin-Jung, I., Diot, A., Dumas, D., et al. (2016). The heparan sulfate sulfotransferase 3-OST3A (HS3ST3A) is a novel tumor regulator and a prognostic marker in breast cancer. *Oncogene* **35**, 5043–5055.
- Nami, B., and Wang, Z. (2017). HER2 in Breast Cancer Stemness: A Negative Feedback Loop towards Trastuzumab Resistance. *Cancers* **9**.
- Thacker, B.E., Xu, D., Lawrence, R., and Esko, J.D. (2014). Heparan sulfate 3-O-sulfation: a rare modification in search of a function. *Matrix Biol. J. Int. Soc. Matrix Biol.* **35**, 60–72.
- Wilken, J.A., and Maihle, N.J. (2010). Primary trastuzumab resistance: new tricks for an old drug. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1210**, 53–65.
- Wu, Z., Xu, S., Zhou, L., Yin, W., Lin, Y., Du, Y., Wang, Y., Jiang, Y., Yin, K., Zhang, J., et al. (2018). Clinical significance of quantitative HER2 gene amplification as related to its predictive value in breast cancer patients in neoadjuvant setting. *OncoTargets Ther.* **11**, 801–808.

Collaborations

Le projet de thèse bénéficiera d'une collaboration établie localement avec l'Institut de Cancérologie de Lorraine (ICL) à Vandoeuvre-lès-Nancy dans le cadre de la réalisation d'un projet de recherche financé pendant un an par la Ligue contre le cancer (demande de poursuite du projet en cours auprès de la Ligue régionale contre le cancer). Dans ce contexte, les interactions avec les cliniciens

oncologues, pharmaciens et cytoanatomopathologistes de l'ICL permettront de conforter l'axe clinique du projet. Cet axe permettra au doctorant d'être en prise directe avec les préoccupations et contraintes des médecins et d'apprendre à travailler en collaboration avec les cliniciens.

Le projet bénéficiera d'une collaboration se poursuivant avec l'équipe de JC Bourdon (Division of Cancer Research, Université de Dundee, UK) qui sur les aspects cellulaires et mécanistiques du projet.

Candidature : Profil et compétences recherchées :

Profil du poste : doctorat dans le domaine de la biochimie des protéines, biologie cellulaire, glycobiologie, cancérologie

Formation initiale du doctorant : formation scientifique souhaitée en biochimie des protéines, enzymologie et biologie cellulaire et moléculaire (master1 et 2 en Biologie-Santé ou Bioingénierie pour la santé ou équivalent). Une première expérience dans le domaine des glycosciences serait appréciée.

Compétences scientifiques et techniques : Savoir mettre en œuvre des techniques de biologie cellulaire (culture cellulaire, transfection de cellules de mammifères), biochimie (extraction et purification de protéines, western blot, immunofluorescence), biologie moléculaire (extraction et purification d'acides nucléiques, PCR classique et quantitative, préparation de vecteurs d'expression pour la production de protéines).

Compétences complémentaires : faire preuve de dynamisme, d'organisation et de rigueur, savoir lire et résumer des publications scientifiques en anglais, être capable de mettre en forme et présenter de façon précise et concise ses résultats à l'oral comme à l'écrit, en français comme en anglais. Une bonne aptitude à la communication et au travail en équipe est indispensable.

Date limite de candidature : 1^{er} juin 2018

Contacts :

Sylvie FOURNEL-GIGLEUX : sylvie.fournel-gigleux@univ-lorraine.fr

Sandrine GULBERTI : sandrine.gulberti@univ-lorraine.fr