CECED 2019

Club d'Etude des Cellules Epithéliales Digestives

Toulouse - Manufacture des Tabacs - 28-29 Mars 2019

Conférenciers invités

Mathias Hornef , M.D.

Institute for Medical Microbiology and Hospital RWTH University Hospital Aachen, Aachen.

Matthias Lutolf, Ph.D.

Laboratory of Stem Cell Bioengineering, Institute of Bioengineering,
École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Lausanne.

Jean-Pierre Hugot, M.D., Ph.D.

Hôpital Robert Debré
Centre de Recherche sur l'Inflammation Paris Montmartre, Inserm U.1149, Université Paris VI

Jérôme Cros, M.D., Ph.D.

Hôpital Beaujon
Centre de Recherche sur l'Inflammation Paris Montmartre, Inserm U.1149, Université Paris VI

Dates à retenir: **Dead-line soumission abstract : 2 février 2019**
Dead-line inscription: 1 Mars 2019

PerkinElmer precisely. · proteintech Antibodies | ELISA kits | Proteins · STEMCELL TECHNOLOGIES · DIAGOMICS ONCOLOGY EXPERT

SFR-BMT Structure Fédérative de Recherche BioMédicale de Toulouse · Cancéropôle Grand Sud-Ouest · Toxalim RESEARCH CENTRE IN FOOD TOXICOLOGY · irsd Institut de Recherche en Santé Digestive · CRCT ONCOPOLE

CECED 2019

Club d'Etude des Cellules Epithéliales Digestives

Toulouse - Manufacture des Tabacs - 28-29 Mars 2018

Jeudi 28 Mars

8h30-9h00 Accueil des participants
9h00-9h15 Inauguration/Discours d'ouverture

9h15 - SESSION I – Métabolisme, Nutrition, Toxicologie
(Modérateurs : André BADO – Sophie THENET)

9h15-9h30: Hanna ILCHMANN-DIOUNOU (Toulouse): Non-Obese Diabetic Mouse Model is emphasizing divergence between *in vivo* and *ex vivo* intestinal permeability measurements
9h30-9h45 : Kévin GILLOIS (Toulouse) : Exposition à l'argent colloïdal sous forme nanoparticulaire : quel impact *in vitro* sur la fonction barrière de l'intestin ?
9h45- 10h : Martin BEAUMONT (Toulouse) : L'ingestion d'aliments solides au début de la vie induit la co-maturation du microbiote et de la barrière intestinale
10h-10h15 : Su LUO (Toulouse) : In vitro and in vivo effects of a mycotoxin, the deoxynivalenol, and a trace metal, the cadmium, alone or in mixture on the intestinal barrier.
10h15-10h30 : Laura SOLER-VASCO (Toulouse) : Molecular phenotyping of intestinal epithelial cells exposed to mycotoxins

10h30-11h Pause-café
11h-11h15 : Présentation partenaire PERKIN-ELMER

11h15-11h30 : Martha GRAUSO (Paris): Un environnement hypertonique affecte le métabolisme énergétique, la prolifération et la fonction barrière des cellules épithéliales intestinales
11h30-11h45 : Ambre RIBA (Aachen): *Giardia lamblia*-induced dysregulation of the host's bile acid and lipid metabolism with stunting following neonatal infection

11h45-12h15/30 CONFERENCE 1 (Sandrine MENARD)
Mathias HORNEF - Host-microbial homeostasis in the gut

12h30-14h00 Pause déjeuner

14h00 - SESSION II : Cancers Gastro-Intestinaux
(Modératrices : Julie PANNEQUIN – Audrey FERRAND)

14h-14h15 : Guillaume BELTHIER (Montpellier) : CD44v6 : un nouveau marqueur pour isoler les cellules tumorales circulantes directement dans le sang de patient avec un cancer colorectal
14h15-14h30 : Linda BILONDA (Nantes) : L'inflammasome des cellules tumorales : un régulateur de la réponse Th1/Tc1 dans les cancers colorectaux
14h30-14h45 : Anaïs BLANCHER (Strasbourg) : Comment s'attaquer aux mutants p53 pour traiter le cancer gastrique ?
14h45-15h : Corinne PREVOSTEL (Montpellier): Identification et caractérisation d'un peptide anti-tumoral dérivé de SOX9
15h-15h15 : Liana ARNAUD (Toulouse): Impact de contaminants alimentaires en fonction de de la susceptibilité génétique au cancer colorectal

15h15-16h CONFERENCE 2 (Audrey Ferrand)

Matthias LUTOLF – Intestine-on-Chip

16h-16h30 Pause-café

16h30 - SESSION III: Signalisation – Pharmacologie
(Modérateurs : Corinne BOUSQUET – Alain COUVINEAU)

16h30-16h45: Justine CREFF (Toulouse): Generation of 3D scaffolds reproducing the intestinal epithelium topography by high-resolution 3D printing
16h45-17h: Nizar SERHAN (Toulouse): HSP70 inhibition and Magnetic Intra-Lysosomal Hyperthermia: a promising synergistic combination for cancer therapy.
17h-17h15: Séverine OLIVIER (Paris) : Bénéfice de l'activation de l'AMPK sur l'intégrité de la barrière intestinale
17h15-17h30 : Jérémie RISPAL (Toulouse) : Relations épistatiques entre le variant d'histone H2A.Z et CDX2 dans l'homéostasie épithéliale intestinale et les régulations Wnt-dépendantes
17h30-17h45 : Marine BECK (Strasbourg): ANK3 est un régulateur de l'activité de la Cadhérine atypique MUCDHL

17h45 Assemblée Générale du CECED

20h30 Soirée de Gala - Chez Navarre 'OH BON PEUPLE' 49, grande rue Nazareth 31000 Toulouse

Vendredi 29 Mars

8h30-9h00 Accueil des participants

9h SESSION IV – Cellules souches
(Modérateurs : Philippe JAY – Isabelle GROSS)

9h-9h15 : Claire RACAUD-SULTAN (Toulouse) : Dimorphisme sexuel dans la régulation des cellules souches coliques dépendante de PAR2
9h15-9h30 : Marie-Isabelle GARCIA (Bruxelles) : Etude du rôle des récepteurs Lgr4 et Lgr5 dans un modèle de cancer colorectal murin
9h30-9h45 : Hélène GUILLORIT (Montpellier) : Cibler les cellules souches cancéreuses avec des antibiotiques

9h45-10h : Présentation partenaire STEM CELL TECHNOLOGIES

10h-SESSION V : Inflammation
(Modérateurs : Sandrine MENARD – Frédérick BARREAU)

10h-10h15 : Nuria SOLA-TAPIAS(Toulouse) : Endoplasmic reticulum stress boosts trypsin proteolytic activity, responsible for intestinal barrier disruption.
10h15-10h30 : Céline DERAISON (Toulouse) : Elastolytic unbalance in intestinal epithelial cells participates to mucosal inflammation in IBD

10h30-11h: Pause-café

11H-11h15 : Sonia LACROIX-LAMANDE (Nouzilly) : Role of Paneth cells during cryptosporidiosis in the neonatal mouse model.

11h15-11h30 : Dan LIU (Paris) : NOX1-derived ROS drive Lipocalin-2 expression in colonic epithelial cells in inflammatory conditions.
11h30-11h45 : Emilie BERSUDER (Strasbourg) : Implication de la Cadhérine Atypique MUCDHL dans les Maladies Inflammatoires Chroniques De l'Intestin (MICI)
11h45-12h : Alexia LAPIERE (Fontenay-aux-roses) : Etude de l'effet de Faecalibacterium prausnitzii pour prévenir l'apparition d'ulcération colique radio-induite : Application dans la prise en charge des complications après radiothérapie abdomino-pelvienne

12h-12h45: CONFERENCE 3: (Frédérick BARREAU)
Jean-Pierre HUGOT : Maladie de Crohn ou l'intestin qui fuit

12h45-13h ***Remise du Prix Claude Rozé : Hanna ILCHMANN-DIOUNOU : Projet de Post-Doc***

13h-14h30 Pause déjeuner

14h30-SESSION VI : Cancer du Pancréas
(Modérateurs : Frédéric ANDRE – Yvan MARTINEAU)
14h30-14h45 : Christophe QUEMERAIS (Toulouse) : Targeting Cancer-Associated Fibroblast vulnerabilities in link with their secretory phenotype
14h45-15h : Sara LOPEZ (Toulouse) : Targeting Cancer-associated fibroblasts by magnetic nanoparticles and magnetic field exposure to disrupt tumor microenvironment.
15h-15h15 : Silvia ARCUCCI (Toulouse): Role of the class IA PI3K p110β subunit in pancreatic cancer
15h15-15h30 : Mandana MOVAHED (Paris): HDAC3 is an orchestrator of pancreatic acinar cell regeneration and neoplasia

15h30-15h45: Présentation partenaire DIAGOMICS

15h45-16h30 CONFERENCE 4: (Corinne BOUSQUET)
Jérôme CROS : Rôles de c-Met et du Vieillissement dans l'adénocarcinome pancréatique

16h30 : ***Remise des prix des 3 meilleures communications orales***
17h : Clôture de la réunion

SESSION I – Métabolisme, Nutrition, Toxicologie

Non-Obese Diabetic Mouse Model is emphasizing divergence between *in vivo* and *ex vivo* intestinal permeability measurements

ILCHMANN-DIOUNOU Hanna[1], BULEON Marie[2], THEODOROU Vassilia[1], DENIS Colette[2], MENARD Sandrine[1]

[1] Neurogastroenterology and Nutrition, Toxalim, INRA Toulouse, France

[2] Renal Fibrosis Lab, I2MC, INSERM Toulouse, France

Introduction: Intestinal permeability is the ability of luminal antigen to pass the intestinal epithelium. Intestinal hyperpermeability has been described in intestinal but also in metabolic and autoimmune disorders like type 1 diabetes mellitus (T1D) characterized by hyperglycaemia and islet cells antibodies. To our knowledge, intestinal permeability in T1D has only been measured *in vivo.*

Aim: We aimed to characterize intestinal permeability in a mouse model of T1D - the Non Obese Diabetic (NOD) - using *in vivo* and *ex vivo* measurements.

Methods: *In vivo* intestinal permeability was assessed by FITC-Dextran (FD4) gavage. *Ex vivo* permeability was measured in Ussing chambers using Fluorescein Sodium Salt (FSS) and Horse Raddish Peroxidase (HRP) as a paracellular and transcellular marker respectively. Renal excretion was measured via FD4 intravenous injection and urine collection.

Results: FD4 concentrations in plasma 4h after gavage was higher in diabetic compared to non-diabetic mice. Surprisingly, *ex vivo* measurement showed decreased intestinal paracellular and transcellular permeability in jejunum and colon of diabetic compared to non-diabetic mice. Diabetic mice excreted higher concentrations of FD4 in urine than non-diabetic mice, excluding a defect of renal excretion. Intestinal transit time and feces humidity were similar. Curiously, diabetic mice had significantly longer small intestine and preliminary results suggested reduction of duodenal villi length compared to non-diabetic mice.

Conclusion: Our results highlight the difficulty of addressing intestinal permeability *in vivo* due to multiple confounding factors involved. We here describe decreased intestinal permeability in established diabetes in NOD mice associated with significant elongation of small intestine.

Body: 248 words

Exposition à l'argent colloïdal sous forme nanoparticulaire : quel impact *in vitro* sur la fonction barrière de l'intestin ?

GILLOIS Kévin[1], ROPERS Marie-Hélène[2], LEVEQUE Mathilde[1], THEODOROU Vassilia[1], ROBERT Hervé[1], MERCIER-BONIN Muriel[1]

[1] Toxalim(ResearchCentre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France
[2] UR1268 BIA (BiopolymèresInteractions Assemblages), INRA , Nantes , France

Résumé : 250 mots maximum. Organisé en plusieurs sections :

Face à l'utilisation croissante de produits nano-facturés dans notre environnement et notre alimentation (additifs, compléments alimentaires), l'évaluation des conséquences d'une exposition orale chez l'Homme constitue un enjeu actuel en santé publique. L'argent, aux vertus antimicrobiennes avérées, peut être retrouvé sous forme nanoparticulaire et/ou forme ionique dans des compléments alimentaires (argent colloïdal), même si la composition exacte de ces produits est peu connue.
L'objectif de ce travail est d'effectuer la caractérisation physico-chimique de deux types d'argent colloïdal (Mesosilver®, Etats-Unis et Biocolloïdal, France) puis d'évaluer *in vitro* leur impact toxicologique après une exposition répétée sur des modèles cellulaires d'entérocytes coliques en présence ou non de mucus (monocultures de cellules Caco-2 et co-cultures Caco-2/HT29-MTX).
La caractérisation physico-chimique a été menée par un large spectre de techniques analytiques. Une exposition répétée de 28 jours a été réalisée sur les deux modèles cellulaires à de faibles doses (0,1-12 µg/mL). La cytotoxicité, la résistance électrique trans-épithéliale (TEER), l'index cellulaire ainsi que la perméabilité trans- et para-cellulaire ont été déterminés.
Des différences de composition (proportion nanoparticules/argent ionique) ont été mises en évidence entre Biocolloïdal et Mesosilver®. Toutefois, ces deux produits induisent une cytotoxicité comparable entre les deux modèles cellulaires, associée à une diminution de l'index cellulaire et de la TEER dès 3 µg/mL. Cependant, seule la perméabilité trans-cellulaire dans les co-cultures est augmentée à cette concentration.
L'impact de l'argent colloïdal sur la fonction barrière de l'intestin a été établi *in vitro*. Ses effets *in vivo*, microbiote compris, seront caractérisés chez la souris lors d'une exposition subchronique.

L'ingestion d'aliments solides au début de la vie induit la co-maturation du microbiote et de la barrière intestinale

BEAUMONT Martin[1], PAËS Charlotte[1,2], CAUQUIL Laurent[1], AYMARD Patrick[1], BARILLY Céline[1], BOUCHEZ Olivier[3], CANLET Cécile[4], COMBES Sylvie[1]

1 - GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, INPT, ENVT, Castanet-Tolosan, France

2 - GEC consortium CCPA, Evialis, Inzo, MixScience, Techna

3 - GeT-PlaGe, Genotoul, INRA, Castanet-Tolosan, France

4 - Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

Introduction : Le microbiote intestinal contribue au développement postnatal de la barrière épithéliale. Néanmoins, les liens avec les modifications nutritionnelles du début de la vie ne sont pas entièrement compris.

Objectif : Identifier les conséquences de l'introduction de l'alimentation solide sur la composition et l'activité du microbiote ainsi que sur la barrière épithéliale.

Matériel et Méthodes : Le métagénome, le métabolome luminal et le transcriptome de la muqueuse ont été analysés dans le caecum de lapereaux allaités exclusivement (18 jours) ou ayant débuté la consommation d'aliments solides (25 jours).

Résultats : L'ingestion d'aliments solides a entraîné une diminution de l'abondance des *Campylobacteraceae*, *Desulfovibrionaceae* et *Enterobacteriaceae* et une augmentation des *Ruminococcaceae.* La concentration de certains métabolites bactériens a augmenté considérablement après l'ingestion d'aliments solides (acétate, butyrate, propionate, 3-phénylpropionate) alors que la concentration de triméthylamine était nettement plus élevée lors de la période d'allaitement exclusif. Dans la muqueuse, l'ingestion d'aliments solides a induit une diminution de l'expression de gènes de marqueurs du renouvellement épithélial (*Lgr5, Mki67*), de mucines (*Muc1, Muc13*), de récepteurs de motifs moléculaires bactériens (*Tlr2, Tlr5*), de peptides anti-microbiens (*Ang, Defb1, Reg3g*) et de jonctions serrées (*Cldn1, Ocln*). Au contraire, l'expression de gènes impliqués dans la sécrétion des immunoglobulines A (*Pigr, Tnsf13b)* et les défenses pro-oxydantes (*Nos2, Gpx2*) a augmenté après l'introduction de l'alimentation solide.

Conclusion : L'ingestion d'aliments solides par des animaux allaités a entraîné un remodelage majeur de la composition et de l'activité du microbiote ainsi que de l'expression des gènes impliqués dans la barrière intestinale. Nous étudions actuellement les mécanismes sous-jacents dans un modèle d'organoïdes.

In vitro and in vivo effects of a mycotoxin, the deoxynivalenol, and a trace metal, the cadmium, alone or in mixture on the intestinal barrier.

LUO Su, BRACARENSE Ana-Paula, TERCIOLO Chloe, PAYROS Delphine, PINTON Philippe, OSWALD Isabelle.P

Abstract: Deoxynivalenol (DON), one of the most prevalent mycotoxin in Europe and cadmium (Cd), a widespread environmental pollutant, are common food contaminants. Most studies have focused on their individual effects while their combined toxicity remains unclear. This study investigates *in vitro* and *in vivo* their individual and combined effects on the intestine. *In vitro*, the barrier function of human Caco-2 cells exposed to DON, Cd (0-30µM), and DON+Cd mixture, was assessed through the measurement of transepithelial electrical resistance (TEER), paracellular permeability and junctional proteins. DON, Cd and DON+Cd mixture decreased the TEER and increased the paracellular permeability in a dose-dependent manner. Abundance of junctional proteins E-cadherin and occludin was considerably reduced in cells exposed to DON, Cd and DON+Cd, while ZO-1, and claudin-3 and -4 expression remained unchanged. The mixture DON+Cd induced slightly higher or similar effects than the most toxic contaminant. *In vivo*, rats exposed to DON (8.2 mg/kg feed) or Cd (5 mg/L water) showed an evident decrease of jejunal crypt depth, whereas villi height remained unaffected. A lower immunostaining of E-cadherin and occludin in the jejunum of rats exposed to contaminants alone or in combination was also observed. As shown *in vitro*, *in vivo* exposure to both DON and Cd induced similar effects than the most toxic contaminant.

Overall, our results show that both DON and Cd alter intestinal barrier function. The effect of the mixture did not demonstrate any synergy, indicating that regulation on individual contaminant should be protective enough for consumers exposed to DON and Cd mixtures.

Molecular phenotyping of intestinal epithelial cells exposed to mycotoxins

SOLER VASCO, Laura[1] ; LABAS Valérie[2-3] ; TEIXEIRA-GOMES Ana Paula[3-4] ; BANLIAT Charles[2-3] ; LAHJOUJI Tarek[1] ; PINTON Philippe[1] ; TERCIOLO Chloé[1] ; NEVES, Manon[1] ; OSWALD Isabelle[1]

[1]Biosynthesis & Toxicity of Mycotoxins; UMR 1331 Toxalim, INRA Toulouse 180, chemin de Tournefeuille - 31027 Toulouse, France
[2] UMR PRC, INRA 85, CNRS 7247, Université de Tours, IFCE, 37380 Nouzilly, France
[3] CIRE, Pôle d'Analyse et d'Imagerie des Biomolécules, INRA, CHRU de Tours, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France.
[4] UMR ISP, INRA 1282, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France

Introduction: Mycotoxins are natural food contaminants that display a wide variety of toxic effects (cytotoxic, genotoxic, endocrine disruption, …). Characterization of their toxicity is hence cumbersome, so the development of high-throughput, comprehensive tools to depict their toxicity is needed. One possibility would be the use of the molecular profiling methodology ICM-MS (Intact Cell MALDI-TOF Mass Spectrometry). This technique is based on the acquisition of MS profiles from whole cells. An ICM-MS profile represents a specific molecular cell phenotype, which can be later combined in machine-learning algorithms for the construction of diagnostic/predictive models. Our hypothesis is that the ICM-MS profiles of cells exposed to characterized, known mycotoxins could be used to build a toxicity-predictive model, that could be valuable for toxicity screening of uncharacterized mycotoxins, toxin combinations, etc. Our **objective** was to verify if the ICM-MS profile of intestinal cells exposed to known mycotoxins was toxin-specific as a first step to test the potentiality of this technique applied to toxicological screening. The **methodology** followed involved a short exposition of differentiated Caco-2 cells to low concentrations of several mycotoxins (deoxynivalenol, zearalenone, aflatoxin-B1, Fumonisin-B1, patulin, ochratoxin-A). Cells were then analyzed using ICM-MS and profiles were compared. **Results** showed that ICM-MS intestinal cells phenotyping was specific enough to differentiate the response to different mycotoxins, with cross-validation and recognition values higher that 80%. The molecular phenotype changed in response to concentration changes and different exposition times. In **conclusion**, ICM-MS shows a promising potential to become a toxicity screening tool.

Acknowledgements: Authors would like to express their gratitude to the Animal Health Department from INRA for their financial support (AP2017-DeptSA).

Un environnement hypertonique affecte le métabolisme énergétique, la prolifération et la fonction barrière des cellules épithéliales intestinales

GRAUSO Marta[1], LAN Annaïg, ANDRIAMIHAJA Mireille, BLAIS Anne, BLACHIER François
[1] UMR Physiologie de la Nutrition et du Comportement Alimentaire, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 75005 Paris, France

Introduction :
Les données disponibles suggèrent qu'un environnement hypertonique pourrait favoriser l'inflammation de la muqueuse intestinale [1,2,3,4]. De plus, les fèces de patients atteints par la maladie de Crohn sont caractérisés par de fortes valeurs d'osmolarité [5,6].

Objectif :
Evaluer les effets de l'hypertonicité luminale sur la viabilité et le métabolisme énergétique mitochondrial des colonocytes, et plus globalement sur la perméabilité épithéliale en lien avec l'expression de gènes impliqués dans ces fonctions cellulaires.

Matériel et Méthodes :
Nous avons utilisé le modèle cellulaire Caco-2, en prolifération ou différentiées sur filtre poreux, pour tester les effets à court (2h) et moyen terme (24h) des milieux moyennement (500 mOsmol/L) et très hyperosmolaires (680 mOsmol/L).

Résultats :
Nous avons montré que les milieux hyperosmolaires (i) diminuent la prolifération cellulaire et le contenu en ATP des cellules sans affecter la viabilité cellulaire ; (ii) modifient l'activité mitochondriale et la consommation d'oxygène ; (iii) affectent l'effet barrière de la monocouche cellulaire différentiée; (iii) provoquent la sécrétion d'IL8 ; (iv) engendrent des changements dans l'expression de gènes reliés aux activités mitochondriales et de gènes codant pour des protéines des jonctions serrées, du transport d'électrolytes et des voie de signalisations.

Conclusion :
Nos résultats *in vitro* indiquent globalement des effets délétères transitoires d'un environnement très hypertonique sur différents fonctions de la cellule épithéliale intestinale, sans affecter la viabilité cellulaire. De plus nos résultats suggèrent la mise en place de mécanismes d'adaptation cellulaire en réponse à un tel environnement.

Références bibliographiques:
[1] Arbabi S. et al. (2001) *J. Surg. Res.* 97(1): 60. [2] Németh Z.H. (2002) *Am. J. Pathol.* 161(3): 987. [3] Yan Y. (2009) *PLoS One* 4(4):e5049. [4] Chen M. et al (2011) *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 300(5): C1155. [5] Schilli R. et al. (1982) *Gut* 23: 326. [6] Vernia, P. et al. *Digest Dis Sci* (1988) 33: 1353.

Giardia lamblia-induced dysregulation of the host's bile acid and lipid metabolism with stunting following neonatal infection

Ambre Riba[1], Kasra Hassani[2], Alesia Walker[3], Niels van Best[1], Dunja von Zeschwitz[1], Teresa Anslinger[1], Nina Sillner[3,4], Ulrike Rolle-Kampczyk[5], Marijana Basic[6], Anne Binz[7], Beate Sodeik[7], Rudolf Bauerfeind[7], Philippe Schmitt-Kopplin[3,4,8], André Bleich[6], Natalia Torow[1], Martin von Bergen[5], Mathias Hornef[1]

[1]Institute of Medical Microbiology, RWTH University Hospital, Pauwelsstr. 30, 52074 Aachen, Germany; [2]Institute of Medical Microbiology and Hospital Epidemiology, Hannover Medical School, Carl-Neuberg Str.1, 30625 Hannover, Germany; [3]Research Unit Analytical BioGeoChemistry, Helmholtz Zentrum München, Ingolstaedter Landstr. 1, 85764 Neuherberg, Germany; [4]ZIEL Institute for Food and Health, Technical University of Munich, Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising, Germany; [5]Helmholtz Centre for Environmental Research, Department of Molecular Systems Biology, Permoserstraße 150, 4318 Leipzig, Germany, [6]Institute for Laboratory Animal Science, Hannover Medical School, Carl-Neuberg Str.1, 30625 Hannover, Germany; [7]Institute for Cell Biology Research Core Unit for Laser Microscopy ReCoLa Hannover Medical School Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover; and [8]Chair of Analytical Food Chemistry, Technical University of Munich, Maximus-von-Imhof-Forum 2, 85354 Freising, Germany

Résumé : 250 mots maximum. Organisé en plusieurs sections :

Whereas infection of adult travelers with human enteropathogen *Giardia lamblia* (*G.l.*) usually causes self-limited diarrhea, exposure of the infant population in endemic areas leads to asymptomatic pathogen carriage and has been associated with stunting and lower weight gain. The lack of a suitable small animal model for chronic infection has hampered our understanding of the interaction of *G.l.* with its host and its contribution to childhood morbidity and mortality. We established a new neonatal infection model and analyzed the age dependent susceptibility and infection-associated consequences in the murine host. Exposure of adult mice resulted in rapid pathogen clearance in absence of clinical symptoms. In contrast, infection of neonate mice resulted in colonization of the upper small intestine, a transient transcriptional stimulation of intestinal epithelium and an increased fecal humidity. High lactose levels in breast milk and immature adaptive immune system were identified to foster *G.l.* growth promoting colonization. Surprisingly, infection during the postnatal period led to chronic carriage through adulthood with detection *G.l.* in feces for more than 18-weeks. Chronically infected animals exhibited significantly decreased levels of serum cholesterol and reduced body weight gain. Careful analysis revealed constantly elevated cholecystokinin levels with enhanced release of bile fluid associated with a significantly altered intestinal bile acid profile and lipid metabolism. Our results highlight importance of age dependent differences in susceptibility to infection and suggest that chronic infection with *G.l.* alters bile

and lipid metabolism leading to reduced weight gain consistent with epidemiological evidence in the human pediatric population in endemic areas.

Remerciements :
We thank Regina Holland, Dominique Gütle, Thorben Albers and Julia Möllmann for technical support, Aline Dupont and Lennart Rüttger for help with animal breeding and mouse experiments, and Michael Lehrke and Egbert Tannich for advice. The work was supported by the priority program SPP1656 (HO 2236/9-2 to MWH) as well as the single grants HO 2236/14-1, HO 2236/12-1 and HO 2236/14-1 (to MWH) from the German Research Foundation (DFG). Microarray data referred to in this publication were generated by the Research Core Unit Transcriptomics of Hannover Medical School, Hannover, Germany, headed by Oliver Dittrich-Breiholz.

SESSION II : Cancers Gastro-Intestinaux

CD44v6 : un nouveau marqueur pour isoler les cellules tumorales circulantes directement dans le sang de patient avec un cancer colorectal

Guillaume Belthier[1], *Fanny Grillet[1], Christophe Duperray[2], Sophie Bravo[3], Jean-Christophe Boyer[3], Olivia Villeronce[1], Jihane Vitre-Boubaker[1], Diana Heaugwane[1], Jean-Marc Pascussi[1], Matthieu Merlot[4], Thibault Mazard[4], Fabienne Portales[4], Marc Ychou[4], Emmanuelle Samalin[4], Frédéric Hollande[5] and Julie Pannequin[1≠]*

[1] IGF, UMR5203 CNRS, U1191 INSERM and UM, Montpellier, France

[2] Cytometry IRBM, Montpellier Rio Imaging, Montpellier, France.

[3]Laboratoire de Biochimie, CHU Carémeau, Nîmes, France

[4] Department of Oncology, ICM-Val d'Aurelle Cancer Center, Montpellier, France

[4] Department of Clinical Pathology, University of Melbourne Centre for Cancer Research, Victorian Comprehensive Cancer Centre, Melbourne, Victoria, Australia

Résumé : 250 mots maximum. Organisé en plusieurs sections :

Introduction : Les cellules tumorales circulantes (CTCs) sont des outils diagnostiques et prognostiques prometteurs. Pour plusieurs cancers, dont le cancer colorectal (CRC), le nombre de CTC était associé à une réponse tumorale et à la survie globale. Cependant, les méthodes de comptage doivent être optimisées et l'identification de marqueurs spécifiques aux CTCs devient un besoin urgent. Lors de nos précédent travaux, nous avons établis différentes lignées de CTCs à partir de sang de patients avec un cancer colorectal métastatique et nous avons montré que le marqueur CD44v6, exprimé à la membrane, était spécifiquement et très fortement exprimé par les CTCs.

Objectif : Démontrer que le marqueur CD44v6 peut être un nouvel outil pour dénombrer mais aussi pour isoler des CTCs dans le sang des patients.

Matériel et Méthodes : Nous avons utilisé un anticorps dirigé contre le marqueur CD44v6 afin de détecter et/ou isoler des CTCs selon deux approches différentes : des colonnes magnétiques de séparation cellulaire ou de la cytométrie en flux. Les tests ont été fait à partir de sang de patients sains de l'EFS puis du sang de patients avec un cancer colorectal.

Résultats : L'établissement d'une nouvelle lignée de CTC CD44v6 positive grâce à l'approche des colonnes magnétiques, et le tri par FACS de cellules CD44v6 positives et

porteuses de mutations cancéreuses nous permet de confirmer l'utilisation de CD44v6 comme un nouvel outil pour isoler des CTCs dans le sang de patients avec un cancer colorectal.

Conclusion : Ces travaux décrivent CD44v6 comme un marqueur spécifique des CTCs, isolées à parti du sang d'un patient avec un cancer colorectal et parce qu'il aussi exprimé dans d'autres cancers, il pourrait être un marqueur général des CTCs.

Remerciements : Je remercie tout d'abord La Ligue Nationale Contre le Cancer qui finance ma thèse. Les patients pour leur participation à l'étude clinique ainsi que mon équipe pour son soutient moral et technique. Enfin le CECED qui donne l'opportunité à des doctorants de présenter leurs travaux.

L'inflammasome des cellules tumorales : un régulateur de la réponse Th1/Tc1 dans les cancers colorectaux

Bilonda Linda[1,2], Dansette Delphine[3], Deleine Cécile[2], Ducoin Kathleen[2], Oger Romain[2], Jouand Nicolas[2], Podevin Juliette[4], Duchalais Emilie[4], Fourquier Pierre[5], Chetritt Jérôme[6], Mosnier Jean-François[3], Savina Ariel[1], Gervois Nadine[2], Bossard Céline[2,3], Jarry Anne[2]

[1] Institut Roche, Boulogne-Billancourt, [2] CRCINA, LabEx IGO, INSERM, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, [3] Service de Pathologie, CHU, Nantes, [4] Service de Chirurgie Digestive, CHU and IMAD, [5] Chirurgie Digestive, Hôpital Privé du Confluent, Nantes, [6] Institut d'Histopathologie, Nantes.

Introduction : Dans les cancers colorectaux (CCR), l'efficacité de la réponse lymphocytaire T anti-tumorale dépend de différents paramètres tels que le statut microsatellitaire (MSS, MSI) qui influence la charge mutationnelle de la tumeur et le niveau d'expression des «immune checkpoint» (ICPs). Un autre candidat susceptible de moduler les lymphocytes T infiltrant la tumeur (TILs) est l'inflammasome, plateforme multiprotéique dont la protéine effectrice, caspase-1, effectue la maturation de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-18. L'IL-18 pourrait générer une réponse Th1/Tc1 (IFN-γ) induite par les TILs exprimant le facteur de transcription Tbet.

Objectif : Cette étude vise à déterminer le statut de l'inflammasome (axe caspase-1/IL-18) dans les cellules tumorales des CCR, en relation avec la densité en TILs $Tbet^+$, leur réponse Th1/Tc1 et le statut microsatellitaire.

Patients et Méthodes : Cette étude est basée sur une double approche, descriptive *in situ* et fonctionnelle sur une cohorte de patients atteints de CCR (CHU de Nantes) incrémentée en continu (76 cas), utilisant un modèle *ex vivo* de cultures d'explants de CCR que nous avons développé.

Résultats : Nous montrons que: 1) dans 70% des cas, l'inflammasome des cellules tumorales est fonctionnel (caspase-1 active, IL-18 mature sécrétée) et associé, dans les CCR MSI et dans un sous-groupe de CCR MSS, à une forte densité en TILs $Tbet^+$ et à une réponse IFN-γ ; 2) le facteur de transcription Tbet est un biomarqueur prédictif d'une réponse Th1/Tc1 préexistante ; 3) le modèle *ex vivo* de cultures d'explants permet d'identifier des sous-groupes de CCR dont l'un co-exprime de nombreux ICPs, et ainsi de prédire la réponse aux inhibiteurs d'ICP.

Conclusion : L'ensemble de ces résultats suggère que l'inflammasome des cellules tumorales pourrait être une cible thérapeutique potentielle pour renforcer la réponse immunitaire anti-tumorale dans les CCR, en association avec d'autres immunothérapies.

Remerciements : Cette étude est soutenue par la Ligue contre le Cancer (CD 44, 22, 53).

Comment s'attaquer aux mutants p53 pour traiter le cancer gastrique ?

Anaïs Blanchet[1], Jessica Miller[2], Christophe Orvain[1], Tim Storr[2] et Christian Gaiddon[1]

[1] Université de Strasbourg, INSERM UMR_S1113, IRFAC, 3 avenue Molière, 67200 Strasbourg

[2] Department of Chemistry, Simon Fraser University, 8888 University Drive, Burnaby, Canada

Introduction

Le facteur de transcription p53 est muté dans la plupart des tumeurs gastriques. Ces mutations peuvent affecter à la fois la fonction de la protéine mais également son repliement, à l'origine d'agrégats de p53. Les agrégats de p53 peuvent être associés à l'agressivité de la tumeur, du fait du gain de fonction associé à la formation de ces structures.

Objectif

Nous voulons caractériser de nouveaux composés chimiques capables d'inhiber la formation d'agrégats de p53 et/ou de restaurer la fonction de p53 dans les cellules de cancer gastrique.

Matériel et Méthodes

Des cellules de cancer gastrique NUGC3, présentant une mutation p53-Y220C, ont été traitées avec des composés d'intérêt, L6 et L7, et l'activité ou l'agrégation de p53 sont évaluées.

Résultats

Les composés L6 et L7 interagissent avec les agrégats de p53 muté Y220C purifié. Les deux composés diminuent l'accumulation d'agrégats dans les cellules NUGC3 et ceci corrèle avec une activité cytotoxique marquée (IC_{50}±5µM). De manière générale, L6 est plus actif que L7. De plus, L6 n'a pas d'activité cytotoxique sur un modèle organoïde de cellules intestinales saines contrairement à l'oxaliplatine, traitement de référence du cancer gastrique.

Conclusion

La cytotoxicité sélective vis-à-vis des cellules cancéreuses de L6 associée à une capacité à réduire l'accumulation d'agrégats de p53 muté indiquent que cette molécule à un potentiel thérapeutique intéressant que nous souhaitons explorer sur des modèles animaux.

Identification et caractérisation d'un peptide anti-tumoral dérivé de SOX9

BLACHE Philippe[1], CANTEREL-THOUENNON Lucile[1], BUSSON Muriel[1], VERDIE Pascal [2], SUBRA Gilles[2], YCHOU Marc [1,3,4] et **PREVOSTEL Corinne**[1]

[1]IRCM, Université de Montpellier, ICM, INSERM U1194, Montpellier, France. [2]IBMM, Université de Montpellier, CNRS, ENSCM, Montpellier, France. [3]ICM, Université de Montpellier, ICM, Montpellier, France. [4]Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHU) de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France.

Résumé :

Introduction : l'activation constitutive de la voie de signalisation oncogénique Wnt/β-caténine observée dans 80% des cancers colorectaux (CRC) est un événement initiateur suffisant pour le développement du CRC. Pourtant, aucun outil thérapeutique ciblant l'activité de cette voie n'est disponible. Récemment, nous avons montré que le facteur de transcription SOX9 inhibe l'activité de cette voie dans les cellules tumorales coliques, via un mécanisme original et indépendant de son activité transcriptionnelle.

Objectif : identifier la séquence minimum de SOX9 responsable de son activité d'inhibition de la voie Wnt/β-caténine et tester son potentiel anti-tumoral.

Matériel et Méthodes : expression inductible par la doxycycline dans des cellules tumorales coliques d'une séquence peptidique minimale de SOX9 couplée à un Flag et aux séquences de localisation nucléaire (NLS) de l'antigène T du virus SV40 et caractérisation *in vitro* et *in vivo* (greffe chez la souris BALB/cAnNCrl de cellules CT26 inductibles) de ses propriétés anti-tumorales.

Résultats : nous démontrons qu'une courte séquence de SOX9 (S9pep) est suffisante pour mimer l'activité suppresseur de tumeur de SOX9 : inhibition de la croissance des cellules tumorales coliques, restauration de l'inhibition de contact cellule-cellule, inhibition de l'activité de la voie Wnt/ß-caténine, diminution significative de la croissance tumorale *in vivo*.

Conclusion : S9pep est un outil prometteur pour le développement d'une approche peptidique originale pour le traitement du CRC.

Remerciements : à la Ligue Régionale contre le Cancer, la Region Languedoc-Roussillon (Prix Chercheur d'Avenir), le GEFLUC, l'AxLRSATT, la Fondation ARC, Lilly France, le Réseau des Animaleries de Montpellier (RAM) -INCa-DGOS-Inserm 6045-, la plateforme de Modèles Précliniques de Cancers Colorectaux (MPCC) du SIRIC Montpellier Cancer -INCa-DGOS-Inserm 12553-, la plateforme SynBio3 IBiSA -Aviesan ITMO Cancer-.

Impact de contaminants alimentaires en fonction de de la susceptibilité génétique au cancer colorectal

Liana Arnaud, Thierry Gauthier, Nathalie Naud, Fabrice Pierre,
Elisa Boutet-Robinet*, Laurence Huc*.

*Contributions équivalentes

Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

Introduction : Le rôle majeur de l'alimentation dans la survenue et le développement du cancer colorectal est appuyé par les études épidémiologiques. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à deux contaminants : le 4-hydroxynonenal (HNE), néoformé pendant la digestion et associé à la consommation de viande rouge, et un mélange de pesticides auquel nous sommes communément exposés.

Objectif : Nous avons étudié l'effet de ces contaminants sur l'initiation, la promotion et la progression du cancer colorectal sur des modèles *in vitro*, présentant une susceptibilité génétique au cancer colorectal.

Matériels et Méthodes : Six lignées cellulaires coliques isogéniques humaines présentant différentes susceptibilités génétiques représentatives de la pathologie humaine ont été exposées chroniquement (3 semaines) au HNE et/ou aux pesticides à de faibles doses (doses alimentaires). La génotoxicité a été évaluée par d'immunomarquage afin de suivre la translocation nucléaire de la protéine 53BP1 et la phosphorylation de l'histone H2AX. La transformation tumorale induite par les contaminants a été étudiée par le test de clonogénicité de croissance sans ancrage sur agar mou.

Résultats : La génotoxicité et la transformation tumorale induites par les contaminants varient en fonction de la susceptibilité génétique, et de l'exposition chronique au HNE et au mélange de pesticides, qu'ils soient seuls ou en mélanges.

Conclusion : Nos travaux suggèrent que l'effet cancérigène du HNE et du mélange de pesticides, seuls ou en mélange, à faibles doses après une exposition chronique dépend de l'état de la vulnérabilité génétique des modèles cellulaires étudiés.

Remerciements : INCA Plan Cancer PestiBG n°ENV201401

SESSION III: Signalisation – Pharmacologie

Generation of 3D scaffolds reproducing the intestinal epithelium topography by high-resolution 3D printing

Justine Creff[1,2], Rémi Courson[2], Julie Foncy[2], Thomas Mangeat[1], Sandrine Souleille[2], Arnaud Besson[1*] and Laurent Malaquin[2*]

[1]LBCMCP, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31062 Toulouse Cedex, France.

[2]LAAS-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, F-31400, Toulouse, France

Résumé : 250 mots maximum. Organisé en plusieurs sections :

Introduction:

The small intestine is a complex tissue with a crypt/villus architecture and high tissue polarity, with proliferative cells located in crypts and differentiated cells migrating upward to the top of villi. The maintenance of tissue integrity and function is supported by this complex organization. However, at the present time most *in vitro* studies have been limited to 2D surfaces or 3D organoid cultures that fail to fully recapitulate the 3D architecture, microenvironment and cell compartmentalization that are found in the tissue *in vivo*. In this context, we developed a new 3D model that recapitulate more faithfully the architecture of the intestinal epithelium *in vitro*.

Material and methods:

Using a new photopolymerizable hydrogel processed with a novel high-resolution stereolithography 3D printing approach, we created artificial 3D scaffolds matching the topography of mouse intestinal epithelium.

Results:

We demonstrated that these 3D scaffolds support the growth and differentiation of Caco-2 cells for 3 weeks.

Conclusion:

These intestinal scaffolds may constitute a complementary approach to study intestinal homeostasis by allowing guided self-organization and controlled differentiation, as well as for *in vitro* drug screening and testing.

Remerciements :

HSP70 inhibition and Magnetic Intra-Lysosomal Hyperthermia: a promising synergistic combination for cancer therapy.

SERHAN Nizar[1], POWELL Helen[1], ANTUNES Joana[2], CLERC Pascal[1], MOTTE Laurence[2], Daniel Fourmy[1], Véronique Gigoux[1].

1 INSERM ERL1226 - Receptology and Therapeutic Targeting of Cancers, Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets, CNRS UMR5215-INSA, Université de Toulouse III, Toulouse, France.
2 LVTS Inserm U1148, Université Paris 13 Sorbonne, Paris.

Résumé :

Introduction : The cholecystokinin receptor (CCK2R) is over-expressed in a collection of human endocrine tumors and this receptor is massively internalized and directed by its agonist to the lysosomes. We developed a targeted nanotherapy called Magnetic Intra-Lysosomal Hyperthermia (MILH) approach: minute amounts of iron oxide magnetic nanoparticles targeting the CCK2R are internalized by cancer cells, accumulated into their lysosomes and kill cancer cells upon a high frequency alternating magnetic field (AMF) exposure, through a lysosomal cell death. Since MILH induced cell death by 20-30%, we hypothesize that certain mechanisms of resistance could inhibit this effect. Heat Shock Protein 70 (HSP70) over-expression in cancers is correlated with poor prognosis and treatment resistance. Additionally, HSP70 has been described as a guardian of lysosome integrity and its downregulation/inhibition induces lysosome membrane permeabilization (LMP), thereby promoting cell death. **Objectives:** We hypothesized that HSP70 inhibition could enhance the efficacy of MILH in cancer cells. **Results:** We showed that HSP70 overexpression prevents cells against LMP and death induced by MILH. Combination of MILH with subletal dose of PES (Pifithrin-µ), a HSP70 specific inhibitor, increases the efficiency of eradication of cancer cells with synergism. Indeed, PES/MILH combined treatment kills 51% of cancer cells whereas MILH eradicates 20% of cancer cells and sublethal dose of PES does not affect cell viability. This effect was associated with an increase in LMP and in the activation of a non-apoptotic Caspase-1-dependent death pathway. **Conclusion:** HSP70 exerts a protective role in MILH-induced cell death and emphasize the benefit of targeting HSP70 for combinatorial treatments, with the prospects of overcoming treatment failure and therapeutic resistance.

Bénéfice de l'activation de l'AMPK sur l'intégrité de la barrière intestinale

OLIVIER Séverine[1,2,3], POCHARD Camille[4,5], GRENIER Adrien Grenier[1,2,3], NEUNLIST Michel[4,5], FORETZ Marc[1,2,3], TAMBURINI Jérôme[1,2,3], ROLLI-DERKINDEREN Malvyne[4,5], VIOLLET Benoit[1,2,3]

[1]INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France ; [2]CNRS UMR8104, Paris, France; [3]Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris 75014, France; [4]Inserm UMR1235, Nantes, France ; [5]IMAD, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, France.

Résumé : 250 mots maximum. Organisé en plusieurs sections :

Introduction :

L'AMP-activated protein kinase (AMPK) est principalement connue pour sa fonction de senseur énergétique mais elle joue également un rôle important dans le processus d'assemblage des jonctions serrées. Cependant, son rôle au niveau intestinal est peu connu.

Objectif :

Cette étude vise à comprendre le rôle de l'AMPK et les effets de son activation dans la régulation de l'intégrité de la barrière intestinale.

Matériel et Méthodes :

L'intégrité de la barrière a été évaluée par des mesures de perméabilité, de résistance électrique transépithéliale (TEER), de l'inflammation, et de l'expression des jonctions serrées dans des modèles de Caco-2 et de souris contrôles, et déficientes en AMPK dans l'épithélium intestinal, après une altération induite respectivement par le « calcium switch » et le DSS.

Résultats :

Un retard de réépithélisation de l'intestin est observé après arrêt du traitement au DSS chez les souris déficientes en AMPK, associé à une augmentation de la perméabilité intestinale, de l'inflammation, et à une diminution de l'expression des jonctions serrées. A l'inverse, l'activation de l'AMPK par la metformine améliore la perméabilité intestinale. *In vitro*, l'activation pharmacologique de l'AMPK suite au « calcium switch »

dans les Caco-2 facilite la reconstruction de l'épithélium en diminuant la perméabilité et augmentant la TEER, et favorise le réassemblage et la relocalisation des jonctions serrées, effet qui est perdu en absence d'AMPK.

Conclusion :

L'AMPK joue un rôle important dans la restauration de la barrière intestinale, suggérant le bénéfice de son activation pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Remerciements :

Région île-de-France, Société Francophone du Diabète (SFD), DHU Authors.

Nombre de mots : 247

Relations épistatiques entre le variant d'histone H2A.Z et CDX2 dans l'homéostasie épithéliale intestinale et les régulations Wnt-dépendantes

Jérémie RISPAL[1], Lucie BARON[1], Jean-François BEAULIEU[2], Martine CHEVILLARD-BRIET[1], Didier TROUCHE[1] and Fabrice ESCAFFIT[1]

[1] LBCMCP, Centre de Biologie Intégrative (CBI), Université de Toulouse, CNRS, UPS, France

[2] Laboratory of Intestinal Physiopathology, Department of Anatomy and Cell Biology, Faculty of Medicine and Health Sciences, Université de Sherbrooke, Québec, Canada

Résumé :

Introduction : Les mécanismes épigénétiques, comme les modifications des histones ou l'incorporation de variants d'histones, contrôlent un grand nombre de processus développementaux et physiologiques. Le variant H2A.Z de l'histone H2A diminue au cours de la différenciation des cellules souches intestinales, notamment au niveau des promoteurs des gènes marqueurs de différenciation, faisant de cette diminution une véritable signature du devenir cellulaire. **Objectif** : Nous avons donc caractérisé le rôle du variant d'histone H2A.Z dans l'homéostasie de l'épithélium intestinal. **Matériel et Méthodes** : Nous avons utilisé des modèles cellulaires (Caco-2/15, HIEC, HCT116), mais aussi des souris nous permettant d'induire le Knock-Out de H2A.Z spécifiquement dans les cellules souches intestinales. **Résultats** : Nous avons montré que H2A.Z est essentiel pour la prolifération des cellules de cancers colorectaux mais aussi de cellules intestinales normales. Par ailleurs, nous avons montré que H2A.Z inhibe l'expression de marqueurs de différenciation entérocytaire et de cellules à mucus, en culture cellulaire et *in vivo*. Nous avons également montré que l'effet de H2A.Z sur la différenciation est dépendant du facteur de transcription CDX2, dont le recrutement, au niveau des promoteurs de ses gènes cibles, est inhibé par l'incorporation de H2A.Z dans la chromatine. Enfin, nous avons montré que H2A.Z est une cible directe de la voie Wnt et agit comme effecteur de celle-ci pour inhiber la différentiation. **Conclusion** : Ces résultats montrent, pour la première fois, que l'incorporation de H2A.Z, sous la dépendance de la voie Wnt, est essentielle au maintien de l'homéostasie tissulaire au niveau de l'épithélium intestinal.

Remerciements : Plateforme Anexplo du CBI, Plateforme d'imagerie TRI du CBI, Fondation ARC

ANK3 est un régulateur de l'activité de la Cadhérine atypique MUCDHL

BECK Marine[1], MARTIN Elisabeth[1], DELHORME Jean-Baptiste[1,2], BERSUDER Emilie[1], LE COM Laura[1,3], REIMUND Jean-Marie[1,3], FREUND Jean-Noël[1], GROSS Isabelle[1]

1 - INSERM UMR_S 1113, Université de Strasbourg, 3 Av. Molière 67200 Strasbourg, France

2 - Service de Chirurgie Générale et Digestive, Hôpitaux Universitaire de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, F-67000 Strasbourg, France

3 - Service d'Hépatho-Gastroentérologie et d'Assistance Nutritive, Hôpitaux Universitaire de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, F-67000 Strasbourg, France

Introduction : L'expression de MUCDHL, membre atypique de la superfamille des Cadhérines, est fréquemment réduite dans les pathologies intestinales (Losi *et al*., 2011). D'un point de vue mécanistique, l'isoforme MUCDHL M, interagit avec la β-Caténine et inhibe son activité transcriptionnelle (Hinkel *et al*., 2012). Néanmoins, il existe encore peu d'informations concernant les relais moléculaires de l'activité de MUCDHL.

Objectif : Identifier de nouveaux interactants de MUCDHL et comprendre les conséquences fonctionnelles de leur interaction avec MUCDHL.

Matériel et Méthodes : Les interactants de MUCDHL ont été identifiés par crible double hybride chez la levure et confirmés par co-immunoprecipitation dans des lignées cellulaires. Les profils d'expression ont été analysés par RT-qPCR, Western blot et immunofluorescence sur des biopsies humaines ou des lignées cellulaires. L'impact fonctionnel a été étudié par des expériences de perte (siRNA) et de gain (plasmide) de fonction.

Résultats : Les résultats du crible de double hybride ont permis d'identifier ANK3, une protéine adaptatrice capable d'inhiber la β-Caténine dans les progéniteurs neuraux du cortex. Après avoir confirmé l'interaction entre les deux protéines, l'analyse fonctionnelle a mis en évidence, qu'ANK3 participe à l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de la β-Caténine par MUCDHL M et qu'il renforce l'interaction entre ces deux protéines. De plus, ANK3 et MUCDHL présentent un profil d'expression similaire le long du tractus digestif et l'expression d'ANK3 dans l'intestin semble être diminuée comme MUCDHL en conditions pathologiques.

Conclusion : Les résultats indiquent l'existence d'une coopération entre MUCDHL et ANK3 et constituent un premier pas vers une meilleure caractérisation du fonctionnement de MUCDHL.

SESSION IV – Cellules souches

Dimorphisme sexuel dans la régulation des cellules souches coliques dépendante de PAR_2

Julie Noguerol, Pierre-Jean Roustan, Mikael N'Taye, Léo Delcombel, Corinne Rolland, Anissa Edir, Chrystelle Bonnart, Alexandre Denadai-Souza, Céline Deraison, Nathalie Vergnolle, Claire Racaud-Sultan
IRSD, Université de Toulouse, INSERM, INRA, ENVT, UPS, Toulouse, France

Introduction: Le dimorphisme sexuel dans les réponses biologiques est important en thérapeutique mais les différences liées au genre dans la physiologie des cellules souches coliques sont méconnues.
Objectif: Après avoir démontré le contrôle exercé par le récepteur activé par les protéases PAR_2 sur les cellules souches coliques, nous avons réalisé ici une comparaison de son expression et des effets de sa déficience ou de son activation sur les capacités de survie et de prolifération des cellules souches mâles et femelles.
Matériel et Méthodes: Les cellules souches coliques isolées de souris C57Bl6 mâles ou femelles entre 6 et 10 semaines, sauvages ou déficientes pour l'expression de PAR_2, ont été cultivées sous la forme d'organoïdes coliques ou colonoïdes. Une activation de PAR_2 a été réalisée par l'addition d'un agoniste peptidique spécifique.
Résultats : L'expression de PAR_2 était plus élevée dans les colonoïdes d'animaux mâles mais requise pour la survie des colonoïdes quelque soit le sexe. Les colonoïdes d'animaux femelles étaient plus nombreux et plus gros que ceux d'animaux mâles, et leur taille augmentée après stimulation de PAR_2. A l'inverse, la taille des colonoïdes des animaux mâles était diminuée après stimulation de PAR_2. L'expression génique de signaux prolifératifs des cellules souches coliques était différente selon le sexe et sous le contrôle de PAR_2.
Conclusion : Ces résultats montrent un dimorphisme sexuel dans la régulation de la prolifération des cellules souches coliques par PAR_2.
Remerciements : Aux membres des plateformes techniques (U1043) et aux supports financiers (ERC, FUI, Région, Toulouse Métropole, BPI, FEDER, Equipex).

Etude du rôle des récepteurs Lgr4 et Lgr5 dans un modèle de cancer colorectal murin

Romain GERBIER, Valéria FERNANDEZ-VALLONNE, Morgane LEPROVOTS, Gilbert VASSART, Marie-Isabelle GARCIA[1]

[1] Université Libre de Bruxelles, Faculté de Médecine, IRIBHM, Route de Lennik 808, 1070 Bruxelles, Belgique

Résumé : 250 mots maximum. Organisé en plusieurs sections :

Introduction :

Les marqueurs de cellules souches Lgr4 et Lgr5, sont apparus récemment comme des modulateurs clés de la voie de signalisation Wnt, suractivée dans la plupart des cancers colorectaux. Ces récepteurs identifient aussi les cellules initiatrices de tumeurs et leur expression corrèle avec grade de la tumeur et pronostic vital. Bien qu'ils représentent des cibles potentielles pour la thérapie oncologique visant à antagoniser la voie Wnt, la fonction biologique et les voies de signalisation intracellulaires en aval de chacun des récepteurs Lgr restent méconnus.

Objectif :

Le but de ce projet est de définir le potentiel oncogénique des marqueurs Lgr4/Lgr5 en combinant des études *in vivo* et *ex vivo* à l'aide d'un modèle murin de cancer colorectal CRC induit par une perte de fonction du suppresseur de tumeurs APC.

Matériel et Méthodes

La perte de fonction conditionnelle de APC dans les cellules souches porte au développement rapide de lésions dans l'intestin grêle ($Lgr5^{Cre/+}/Apc^{Flox/Flox}$). The rôle potentiel de Lgr4 ou Lgr5 dans le développement tumoral est étudié dans un contexte permettant leur ablation simultanée (par injection de tamoxifène) dans les cellules souches ($Lgr5^{Cre/+}/Apc^{Flox/Flox}/Lgr4^{Flox/Flox}$ and $Lgr5^{Cre/Flox}/Apc^{Flox/Flox}$) ainsi que le suivi des cellules recombinées par le reporteur Rosa26-Tomato.

Résultats

L'analyse des tissus dans les 3 contextes génétiques 6-7 semaines après l'induction de la recombinaison révèle que l'absence de l'un ou l'autre des récepteurs porte au développement de tumeurs plus larges dans le duodenum et plus nombreuses par rapport au contrôle.

Conclusion :

Ces données, à priori inattendues, suggèrent que les récepteurs Lgrs pourraient réguler différemment la voie de signalisation Wnt selon the modèle du "just right-level".

Remerciements :

Nous remercions les professeurs Nishimori et Clevers pour les lignées de souris Lgr4 flox et Lgr5 flox.

Cibler les cellules souches cancéreuses avec des antibiotiques

GUILLORIT Hélène[1], MARTIN Céline[2], RELIER Sébastien[1], DI GIORGIO Céline[2], CHOQUET Armelle[1], PANNEQUIN Julie[1], MACARI Françoise[1], DUCA Maria[2], DAVID Alexandre[1].

[1] Institut de Génomique Fonctionnelle, Univ. Montpellier, CNRS, INSERM, Montpellier, France

[2] Institut de Chimie de Nice, Univ. Côte d'Azur, CNRS, Nice, France

Introduction : Dans les stades avancés du cancer colorectal, les thérapies conventionnelles se heurtent à une résistance accrue des cellules cancéreuses et la formation de métastases. Ces échecs thérapeutiques peuvent être expliqués par l'existence d'une sous-population minoritaire de cellules au sein de la masse tumorale : les cellules souches cancéreuses (CSC). Ces cellules sont capables d'auto-renouvellement, de chimio-résistance et favorisent la dissémination des cellules cancéreuses. Cibler les CSC chez les patients atteints de cancer est primordial pour améliorer l'efficacité des traitements actuels et limiter les récidives. Nous avons pu mettre en évidence un effet de la streptomycine (SM), un antibiotique de la famille des aminoglycosides, sur la survie des CSCs.

Objectif : L'objectif est d'élucider le mécanisme par lequel la SM agit sur les CSC dans le but de développer des dérivés de SM exploitables en thérapie adjuvante.

Matériel et Méthodes : L'effet de la SM et de ses dérivés a été étudié sur des lignées cellulaires cultivées en suspension, méthode permettant un enrichissement en CSC sous forme de « sphères ».

Résultats : Nous avons montré que l'ajout de SM conduit à la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) par les mitochondries et induit la mort des CSCs. Cette cascade réactionnelle nécessite la présence d'un groupement aldéhyde au sein de la SM pouvant intervenir dans sa liaison avec sa cible cellulaire.

Conclusion : Des dérivés de la SM sont en cours de synthèse dans le but de co-immunoprécipiter sa (ses) cible(s) cellulaire(s) et approfondir son mécanisme d'action.

SESSION V : Inflammation

Endoplasmic reticulum stress boost trypsin proteolytic activity; responsible for intestinal barrier disruption.

Núria Solà Tapias[1], Alexandre Denadai-Souza[1], Claire Rolland-Fourcade[1], Catherine Blanpied[1], Anissa Edir[1], Corinne Rolland[1], Delphine Bonnet[2], Laurent Alric[2], Guillaume Portier[2], Sylvain Kirzin[2], Gilles Dietrich[1], Emmanuel Mas[1,2], Céline Deraison[1], Chrystelle Bonnart[1], Nathalie Vergnolle[1,3], Frédérick Barreau[1]

[1]IRSD, Université de Toulouse, INSERM, INRA, ENVT, UPS, Toulouse, France
[2]Pole Digestif, CHU, Toulouse, France
[3]Department of Physiology and Pharmacology, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada

Résumé : 250 mots maximum.

Introduction: Ulcerative Colitis (UC) is an Inflammatory Bowel Disease that effects the inner mucosa of the large intestine. Their colonic tissue exhibits: excessive Endoplasmic Reticulum Stress (ERS), intestinal mucosa disruption and increased proteolytic activity. Despite, the association within those features is unknown.

Objectif: Thus, we investigate the impact of ERS on epithelial trypsin secretion on intestinal epithelium homeostasis.

Matériel et Méthodes: We quantified trypsin-like activity present in UC's biopsies. To mimic intestinal mucosa we cultured caco-2 in a transwell with/out thapsigargin (TG) to induce ERS. 6 hours after TG stimulation, we collected the supernatant to quantify trypsin-proteolyic activity. We verify the involvement of protease on intestinal disruption, along with a serine protease inhibitor (AEBSF) by analyzing: paracellular permeability test (dextran-FITC), CXCL-8 assay and antimicrobial peptides (AMP) genes. We used protease-activated receptors (PAR-2 and -4) antagonists to characterize the mechanism of action of trypsin proteases.

Résultats: UC colonic biopsies shown excessive trypsin-like activity localized on IECs, together with upregulation of ERS genes. Caco-2 model in response to ERS -induced by TG-, also evidence a large release of trypsin activity. This proteolytic activity was responsible for increasing paracellular permeability, CXCL-8 release and upregulating AMP (HBD1, HBD2, TFF3, MUC5). Inhibition of trypsin proteases (AEBSF) restored most of the parameters affected. PAR-2 and -4 were upregulated after 6 hours of TG treatment. The blockage of these receptors with antagonists restored paracellular permeability.

Conclusion: We show that on IECs, ERS increases trypsin-like proteolytic activity, which is responsible of disrupting intestinal barrier through PAR-2 and -4.

Remerciements: My former team (Team 1 IRSD), my thesis advisors: Frédérick Barreau and Nathalie Vergnolle, and Marlene Marcellin from the proteomic facility at IPBS.

ELASTOLYTIC UNBALANCE IN INTESTINAL EPITHELIAL CELLS PARTICIPATES TO MUCOSAL INFLAMMATION IN IBD

Céline Deraison[1], Corinne Rolland[1], Anissa Edir[1], Alexandre Denadaï-Souza[1], Laura Giraud[1], Perinne Rousset[1], Chrystelle Bonnart[1], Jean Paul Motta[1], Laurent Alric[2], Delphine Bonnet[2], Nathalie Vergnolle[1],
1 Inserm, U1220, Toulouse, 31300, France
2 Pôle Digestif, CHU Purpan, Toulouse, France

Imbalance between proteases and their inhibitors appears to be crucial to the development of Inflammatory Bowel Diseases (IBD). We have previously shown that colonic biopsies from IBD patients released higher elastolytic activity compared to biopsies from healthy controls. The aim of our study was to identify the source of elastase hyperactivity released by IBD biopsies and to examine its impacts on colonic barrier function and inflammatory response.

M&M In situ zymography was performed on cryosections of colonic biopsies from healthy and IBD patients. Immunostaining for epithelial Elastase was performed on cryosections from human biopsies. Transgenic murine model, which over-expressed the epithelial elastase specifically in epithelial cells in a temporally controlled manner, was developed (pVillin-CRE^{ERT2} -ELA) and analysed at macroscopic and molecular levels.

Results In situ zymography evidenced strong elastolytic activity in enterocytes of healthy human colonic tissues, which was greatly enhanced in inflamed biopsies as well as in non-inflamed biopsies from IBD patients. An elastase cDNA was cloned from human enterocytes. Immunostaining of colonic tissues showed that this elastase was only expressed in epithelial cells and secreted into the lumen. In IBD, the expression of this elastase was enhanced in the epithelium. In transgenic mice, over-expression of elastase in the intestinal epithelium (pVillin-ELA mice) for 3 weeks led to increased permeability and overexpression of antimicrobial peptides.

Conclusion We demonstrate the presence of an epithelial form of elastase in the intestine. Imbalance between elastase and its inhibitor in the epithelium participates in the generation of IBD-associated symptoms.

Role of Paneth cells during cryptosporidiosis in the neonatal mouse model.

Alessandra Nicolosi[1], Tiffany Pezier[1], William Guesdon[1], Fabrice Laurent[1], Sonia Lacroix-Lamandé[1].

1- Equipe Apicomplexes et Immunité Mucosale (AIM), UMR1282 Infectiologie et Santé Publique (ISP) INRA – Université, Centre Val de Loire, 37380 Nouzilly.

Introduction :

Cryptosporidium parvum is a zoonotic apicomplexan parasite responsible for a diarrheal disease named cryptosporidiosis. This protozoan parasite is found worldwide and is transmitted by contaminated water. In Humans, Cryptosporidiosis affects mostly children under 5 and immunocompromised patients (AIDS or organ transplant patients). This pathology is also a major cause of economic loss to cattle producers worldwide. The immature intestinal immune system in neonates places them at high risk of developing cryptosporidiosis. Paneth cells (PC) are specialized intestinal epithelial cells located at the base of intestinal crypts producing antimicrobial peptides (AMPs) that develop and mature after birth. We and others have already described in vitro that antimicrobial peptides can be efficient to alter the viability of sporozoites of *C. parvum*.

Objective and methods

We therefore wondered whether PCs and the AMPs that they produce can participate in the protective immune response against the parasite. By using a mouse model of neonatal cryptosporidiosis, we have investigated the role of Paneth cells in the innate protective immune response against *C. parvum*.

Results :

We first compared the susceptibility to *C. parvum* of mice with or without PCs and observed an increased level of infection when PCs are absent. We also determined the effect of *Cryptosporidium parvum* infection on PCs and observed a negative impact on lyzozyme production by these cells. Altogether, these first results clearly demonstrate that PCs are important contributors of the protective immune response in mice and that lyzozyme, already described to be efficient in vitro on *C. parvum* viability, may be involved in this effect.

NOX1-derived ROS drive Lipocalin-2 expression in colonic epithelial cells in inflammatory conditions.

LIU Dan [1], BEN KHEMIS Marwa [1], MAKHEZER Nesrine [1], EL-BENNA Jamel [1], SANNIER Aurélie [2], PELLETIER Anne-Laure [3], MARIE Jean-Claude [1] and DANG Pham My-Chan [1].

[1] INSERM-U1149, CNRS-ERL8252, Centre de Recherche sur l'Inflammation, Paris, France.
[2] Département de Pathologie, Hôpital Bichat – Claude Bernard, Paris, France
[3] Service d'Hépato-Gastroentérologie et Cancérologie Digestive, Hôpital Bichat – Claude Bernard, Paris, France.

Introduction : Inflammatory bowel disease (IBD) is characterized by severe and recurrent inflammation of the gastrointestinal tract, associated with altered patterns of cytokine synthesis, excessive reactive oxygen species (ROS) production and high levels of the innate immune protein, lipocalin-2 (LCN-2) in the mucosa. The major source of ROS in intestinal epithelial cells is the NADPH oxidase NOX1, which consists of the transmembrane proteins, NOX1 and $p22^{PHOX}$, and the cytosolic proteins, NOXO1, NOXA1 and Rac1.

Objectif : Here, we investigated whether NOX1 activation and ROS production induced by key inflammatory cytokines in IBD could causally affect LCN-2 production in colonic epithelial cells

Matériel et Méthodes : NOX1 subunits and LCN-2 expressions were analysed in intestinal epithelial cells under inflammatory conditions and in biopsies of patients with Crohn's disease. ROS production was measured by chemiluminescence. NOX1 inhibition strategies and NOX1-deficient mice were used to analyse the involvement of NOX1 in the regulation of LCN-2 expression *in vitro* and *in vivo* during TNBS-induced colitis respectively.

***Résultats* :** We found that the combination of TNFα and IL-17 induced a dramatic upregulation of NOXO1 expression which was dependent on the activation of p38MAPK and JNK1/2. This resulted into an increase of NOX1 activity and ROS production. NOX1-derived ROS drove the expression of LCN-2 by controlling the expression of IκBζ, a master inducer of LCN-2. Furthermore, LCN-2 production and colon damage were decreased in NOX1-deficient mice during TNBS-induced colitis. Also, biopsies from patients with Crohn's disease showed increased JNK1/2 activation, and NOXO1 and LCN-2 expression.

Conclusion : NOX1 might play a key role in mucosal immunity and inflammation by controlling LCN-2 expression.

Remerciements : This work was supported by La Ligue Nationale Contre le Cancer, Grant n° RS17/75-46, and n° RS18/75-13, INSERM, CNRS and University Denis-Diderot Paris 7.

Implication de la Cadhérine Atypique MUCDHL dans les Maladies Inflammatoires Chroniques De l'Intestin (MICI)

BERSUDER Emilie[1], LE COM Laura [1,2], MARTIN Elisabeth[1], LE MAY Cédric[3], FREUND Jean-Noël[1], REIMUND Jean-Marie[1,2], GROSS Isabelle[1]

[1] Université de Strasbourg, INSERM UMR_S 1113, FMTS, 3 Av. Molière 67200 Strasbourg, France

[2] Service Hépato-Gastroentérologie et Assistance Nutritive, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France

[3] Université de Nantes, L'Institut du Thorax, INSERM UMR_S 1087, CNRS UMR_S 6291, Nantes, France

Résumé : 250 mots maximum.

Introduction :

Les Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales (MICI) diminuent la qualité de vie d'environ 200 000 personnes en France et augmentent leur risque de développer un cancer colique. Leur étiologie est encore mal comprise et il n'existe à l'heure actuelle aucun traitement curatif. Nous avons récemment identifié la Cadhérine atypique MUCDHL en tant que cible directe de CDX2[1] et montré que MUCDHL agit comme un suppresseur de tumeurs dans le côlon. Or, l'analyse d'une petite cohorte de patients suggère que l'expression de *MUCDHL* est également diminuée au cours des MICI[2].

Objectif : déterminer l'implication de MUCDHL dans les MICI.

Matériel et Méthodes :

L'expression de MUCDHL a été évaluée par RT-qPCR ou immunohistochimie dans des échantillons de patients atteints de MICI (n=40) et de souris traitées par le Dextran Sulfate de Sodium (DSS). L'implication de MUCDHL dans la pathogénie et l'évolution des MICI a été étudiée via ce modèle de colite en comparant les scores clinique et histologique, l'expression de marqueurs de l'inflammation et l'infiltrat immunitaire chez des souris *Mucdhl*$^{-/-}$ et *Mucdhl*$^{+/+}$.

Résultats :

L'expression de *MUCDHL* est réduite dans la muqueuse colique inflammatoire. Chez la souris, sa perte aggrave l'inflammation induite par le DSS et retarde la réparation de la muqueuse, mais ne semble pas modifier les paramètres inflammatoires.

Conclusion :

Ces résultats suggèrent fortement que MUCDHL joue un rôle dans la physiopathologie des MICI. Il s'agit à présent de déterminer les mécanismes responsables de la perte d'expression et de la sensibilisation à l'inflammation.

[1] Hinkel et al., Gastroenterology. 2012 Apr;142(4):875-885.e3.
[2] Losi et al., Hum Pathol. 2011 Jul;42(7):960-71.

Etude de l'effet de *Faecalibacterium prausnitzii* pour prévenir l'apparition d'ulcération colique radio-induite : Application dans la prise en charge des complications après radiothérapie abdomino-pelvienne

Alexia LAPIERE[1], Véronique ROBERT[2], Christelle DEMARQUAY[1], Marc BENDERITTER[1], Jean-Marc CHATEL[2], Alexandra SEMONT[1]

[1]Laboratoire de Radiobiologie des expositions médicales (LRMed), IRSN
31 avenue de la Division Leclerc 92260 Fontenay-aux-Roses
[2]Laboratoire MICALIS (INRA), allée de Vilvert 78352 Jouy-en-Josas

Résumé :

La radiothérapie (RT) est le traitement incontournable dans la prise en charge de cancers dans la zone pelvienne. L'irradiation des tissus environnant la tumeur entraîne des effets secondaires plusieurs années après la fin de la RT. Une nouvelle pathologie, la Pelvic Radiation Disease, a été définie suite au nombre croissant de patients développant des complications tardives. Elles ont pour origine le déclenchement d'une forte réponse inflammatoire due à la perte de l'intégrité d'organes très radiosensibles (côlon et rectum). Une modification de la diversité du microbiote intestinal est observée après RT, notamment une diminution des populations de *Faecalibacterium prausnitzii* (*Fp*), qui joue un rôle important dans le maintien de la barrière intestinale.

Cette étude a pour but d'analyser la capacité de *Fp* à prévenir l'apparition d'ulcérations radio-induites sévères coliques.

L'effet préventif de l'administration quotidienne de 10^9 CFU de *Fp* est étudié 72h après une irradiation colorectale de 29Gy. L'intégrité de la barrière colique est évaluée par analyse histologique pour observer les altérations et l'état de renouvellement de l'épithélium, et par analyse de la perméabilité épithéliale *ex vivo*.

L'administration de *Fp* réduit les zones de cryptes atypiques, augmente la capacité proliférative des cellules épithéliales et le nombre de cellules marquées SOX9, et diminue les paramètres inflammatoires et la perméabilité radio-induite.

Ces résultats montrent que l'administration de *Fp* permet de diminuer les dommages de l'épithélium colique et d'améliorer sa fonction de barrière. La co-administration de *Fp* avec d'autres stratégies thérapeutiques est en cours.

SESSION VI : Cancer du Pancréas

Targeting Cancer-Associated Fibroblast vulnerabilities in link with their secretory phenotype

Quemerais Christophe, Jean Christine, Zaghdoudi Sonia, Shin Sauyeun, Dusetti Nelson, Nicolle Rémy, Touriol Christian, Martineau Yvan, Pyronnet Stéphane, Bousquet Corinne

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is characterized by a prominent desmoplastic reaction where Cancer Associated Fibroblast (CAF) represent the main cell component. CAF secrete soluble factors and extra-cellular matrix involved in chemoresistance and PDAC progression. Our team demonstrated that CAF present a robust protein synthesis activity associated to their high secretory features. Our project aims at understanding the mechanism involved in sustained protein synthesis linked to CAF secretory phenotype. We show that CAF mainly synthesize membrane and secreted protein transiting through endoplasmic reticulum (ER) whereas pancreatic tumor cells mostly produce cytosolic proteins. We compared the expression in the tumor *versus* stroma of protein synthesis regulating factors using transcriptomic signatures obtained from pancreatic patient-derived xenografts, and we identified an ER chaperone overexpressed in stroma as compared to tumor, and in the stroma of the most aggressive forms of PDAC, which we confirmed by immunohistochemistry, and by western blot in CAF as compared to tumor cells. Furthermore, we show that this chaperone is also increased in secretory fibroblasts getting activated during pancreatitis. We demonstrated that this chaperone finely tunes the ER homeostasis, since its invalidation (expression knock-down), 1/ robustly increases the expression of the ER stress sensors, and 2/ sensitizes CAF to ER stress despite that CAF expressing this chaperone present an increased intrinsic ER stress-resistance as compared to tumor cells. This work enabled to uncover in CAF an ER-related vulnerability in link with their adverse secretory phenotype, the targeting of which should overcome stroma resistance to ER stress-inducing drugs.

Targeting Cancer-associated fibroblasts by magnetic nanoparticles and magnetic field exposure to disrupt tumor microenvironment.

LOPEZ Sara[1], HALALLI Nicolas[3], LALATONE Yoann[2], CLERC Pascal[1], BOUSQUET Corinne[4], MOTTE Laurence[2], FOURMY Daniel[1], CARREY Julian[3], GIGOUX Véronique[1].

1. INSERM ERL1226 "Receptology and Targeted Therapy of Cancers", Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets, CNRS UMR5215-INSA, Université de Toulouse III, TOULOUSE, France.
2. Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets, CNRS UMR5215-INSA, Université de Toulouse III, TOULOUSE, France
3. LVTS, INSERM U1148, UFR SMBH, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, BOBIGNY.
4. UMR INSERM-1037, Toulouse University III, CRCT "Cancer Research Center of Toulouse", Team 6 "Protein Synthesis & Secretion in Carcinogenesis", Oncopole de Toulouse, 2 avenue Hubert Curien, CS 53717, 31037 TOULOUSE CEDEX 1, France

Introduction: Efficacy of anti-cancer treatments is limited by low drug concentration at the tumor site and development of resistance to treatments. Cancer progression is not only determined by the genotype of cancer cells, but also by their interactions with tumor microenvironment. The extracellular matrix (ECM) constitutes a barrier limiting the penetration of chemotherapeutic agents into the tumor; Cancer-associated fibroblasts (CAFs) secrete collagen increasing ECM density and factors promoting tumor growth and resistance acquisition of cancer cells. Thus, CAFs eradication constitutes an interesting strategy to inhibit cancer progression. In this context, the development of targeted magnetic nanoparticles (MNPs), known to release thermal energy or mechanical forces when exposed to a high frequency alternating magnetic field (AMF) or a rotating low frequency magnetic field respectively, represents a real new opportunity. Recently, the cholecystokinin receptors CCK1R and CCK2R were shown to be expressed on CAFs from pancreatic adenocarcinoma. The **Objectives** were to develop MNPs targeting these pancreatic CAFs and to evaluate the effect of magnetic fields exposure on their survival. **Materials/Methods:** We synthesized MNPs decorated with gastrin (Gastrin-MNPs) to target the CCK2R. We studied the CAFs targeting efficacy and the effects of AMF or RMF exposure on CAFs death. **Results:** Gastrin-MNPs bind specifically to CAFs expressing the CCK2R, internalize and accumulate in their lysosomes. AMF or RMF exposure induces specifically the death of ~30% of CAFs-containing Gastrin-MNPs. The mechanism involves a non-apoptotic cell death pathway dependent on Caspase-1 activation. **Conclusion:** This project will establish the proof-of-concept that targeted MNPs can eradicate CAFs and disrupt tumor microenvironment.

Role of the class IA PI3K p110β subunit in pancreatic cancer

ARCUCCI Silvia[1,2], THERVILLE Nicole[1,2], BASSET Céline[1,2,3], VERTUT Aurelie[1,2], GUILLERMET-GUIBERT Julie[1,2]

[1] INSERM U1037, CRCT, Université Paul Sabatier, Toulouse;
[2]Laboratoire d'Excellence TouCAN;
[3] Service d'Anatomo-Pathologie, IUCT-O, Toulouse.

Introduction: Class I PI3K signaling is constitutively active and correlated with a poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). The modest effect of pan-PI3Ks inhibitors clinically tested on different cancers, highlighted the need to understand the roles of each PI3K isoform in cancer cell.
My team has developed unique mouse models that recapitulate the carcinogenesis of PDAC and that conditionally target the activity of PI3Kα or PI3Kβ specifically in pancreatic epithelial cells.
Methods: We analyzed the biological impact of pancreas-restricted genetic inactivation of PI3Kβ during pancreatic cancer progression induced by oncogenic Kras with or without mutated p53 combined with experimentally induced risk factor conditions such as inflammation. In particular, we searched the mechanisms of action of PI3Kβ in pancreatic carcinogenesis and in lesion-driven stroma formation.
Results: Inhibition of PI3Kβ prevented tumor progression towards metastatic cancer and led to the formation of low-grade neoplastic lesions, demonstrating the role of this isoform in pancreatic carcinogenesis. We found that upon genetic inactivation of the PI3Kβ isoform, the only lesions present are duct-like preneoplastic structures. Besides, mice harboring genetic inactivation of PI3Kβ in their pancreas are protected from mutated Kras and p53-induced lethality. Interestingly, PI3Kβ inactivation in pancreatic epithelial cells is responsible for changing the immune cell recruitment and the stromal response to epithelial oncogenic Kras signal or to inflammation.
Conclusion: Our data suggest that PI3Kβ in pancreatic lineage plays an important role in murine pancreatic cancer initiation, by impacting cell dedifferentiation and reprogramming tumor microenvironment.

HDAC3 is an orchestrator of pancreatic acinar cell regeneration and neoplasia

MOVAHED Mandana[1], STEDMAN Aline[1], DIRAMI Thassadite[1], QUILICHINI Evans[1], FABRE Mélanie[1], MONTGOMERY Rusty[2], BASSEL-DUBY Rhonda[3], OLSON Eric[3], SONDA Sabrina[4], HAUMAITRE Cécile[1]

1- Sorbonne Universite, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM) Paris, France.
2- miRagen Therapeutics, Inc, CO, USA.
3- Department of Molecular Biology, Hamon Center for Regenerative Science and Medicine, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX, USA.
4- College of Health and Medicine, University of Tasmania, Tasmania, Australia.

Introduction

95% of pancreatic cancer originates from exocrine acinar and ductal cells. In response to insults, such as inflammation during pancreatitis, acinar cells are able to regenerate, by undergoing transient acinar-to-ductal metaplasia (ADM). However, this cellular plasticity can also facilitate pancreatic neoplasia and constitutes a risk factor for pancreatic cancer (PDAC).

Objective

Our objective was to uncover new regulators of pancreatic regeneration and neoplasia. We previously highlighted roles of HDAC epigenetic modifiers in pancreas development and disease (1). Here, we focused on Histone deacetylase 3 (Hdac3), providing its enzymatic activity to the NCoR/SMRT transcriptional complex, and can act both as an activator and repressor of transcription.

Material & Methods

We conditionally inactivated Hdac3 in mice, either in pancreatic progenitors using Pdx1-Cre; Hdac3$^{fl/fl}$ mice or in pancreatic acinar cells with Ptf1a-CreER; Hdac3$^{fl/fl}$ mice. Pancreatitis was induced using cerulein treatment.

Results

We found that lack of Hdac3 in pancreatic progenitors leads to a strong pancreatic hypoplasia and early lethality in mice with loss of acinar cells and ADM. While Hdac3 inactivation in pancreatic acinar cells perinatally and in adults has no effect at homeostasis, it severely impairs pancreatic regeneration and induces neoplasia in the context of acute pancreatitis.

Conclusion

Our results show that Hdac3 is specifically involved in acinar cell regeneration, recapitulating an embryonic program. Elucidating the specialized functions of HDAC3 in acinar regeneration and neoplasia initiation is crucial to exploit this epigenetic factor as a biomarker and identify new regulators and therapeutic targets of pancreatitis and pancreatic cancer drivers.

(1) Implication of epigenetics in pancreas development and disease. Quilichini E, Haumaitre C. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2015 Dec;29(6):883-98.