

**FICHE SUJET DE THESE**

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement :
Titre de la thèse : <b>C-NU- Identification génétique et moléculaire des cellules impliquées dans les rechutes des glioblastomes</b>		3 mots-clés : Glioblastome, radio-chimiothérapie résistance, rechutes.
Unité/équipe encadrante : <b>UMR 1307 Equipe 10</b>		
Directeur de thèse : Dr Catherine Gratas		N° de tél : 0228080322 Mail : catherine.gratas@univ-nantes.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>Le glioblastome multiforme (GBM) est la forme la plus fréquente et la plus agressive des tumeurs cérébrales primaires chez l'adulte. Les traitements actuels (chirurgie, radio-chimiothérapie) ont permis d'augmenter la survie des patients à 18 mois mais le taux de survie des patients reste inférieur à 5% à 5 ans en raison des rechutes systématiques. Il est donc crucial d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques, mais ceci implique une meilleure compréhension de la résistance aux traitements. Les glioblastomes sont des tumeurs très hétérogènes, tant sur le point de vue moléculaire que cellulaire. S'il a été montré que les cellules souches tumorales sont impliquées dans les rechutes, d'autres sous-populations tumorales et d'autres facteurs comme le microenvironnement, interviennent également. Les nouvelles technologies de culture primaire dérivée de tumeur de patients ont permis d'obtenir des modèles cellulaires plus représentatifs de la diversité des glioblastomes, avec notamment un enrichissement en cellules souches tumorales, de sous-types moléculaires différents (mesenchymateux, classique et proneural) et présentant des altérations des voies de signalisation différentes. Dans l'équipe, nous disposons de modèles cellulaires dérivés de glioblastome primaire et de la rechute associée du même patient. A notre connaissance très peu d'études ont été menées sur ce type de prélèvements.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p><b>Dans ce projet de thèse, nous voulons caractériser les cellules présentes dans les rechutes pour mieux comprendre leur origine : cellule souche infiltrée qui forme une nouvelle tumeur indépendante ou cellules de la tumeur primaire qui se sont adaptées pour résister au traitement .</b></p> <p>Cette étude sera réalisée avec des cultures primaires dérivées de tumeur de patients (2D, 3D). Pour chaque analyse, nous comparerons les cultures issues de tumeur primaire/rechute du même patient. De plus pour affiner notre étude nous utiliserons en parallèle des modèles cellulaires résistants à la radiothérapie ou la chimiothérapie au témozolomide, traitements de base du glioblastome, développés <i>in vitro</i> à partir de cultures de tumeurs primaires de différents sous-types moléculaires. Avec ces modèles, l'objectif de la thèse est d'identifier les caractéristiques génétiques, épigénétiques et moléculaires des cellules tumorales impliquées dans les rechutes, et d'identifier d'éventuelles vulnérabilités permettant leur ciblage thérapeutique.</p>		

Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :

Cette thèse sera organisée de la manière suivante :

1) Développement des modèles cellulaires et caractérisation phénotypique

La sensibilité des cellules tumorales à la radiothérapie (dose croissante 0 à 15 Gy) et au témozolomide (dose croissante 0 à 400µM) sera analysée par test de clonogénicité, cytométrie, microscopie et vidéomicroscopie.

2) Analyse moléculaire comparative

Des analyses transcriptomiques par séquençage ARN seront réalisées pour identifier les gènes différentiellement exprimés entre tumeurs primaires et récidives paires et dans les modèles développés *in vitro*. Les gènes sélectionnés seront par la suite validés par RT-qPCR sur des tumeurs non paires. Les mécanismes génétiques ou épigénétiques altérés seront précisés pour permettre un meilleur ciblage par invalidation génétique avec la technologie Crispr/Cas9 et par mesure de la méthylation de l'ADN respectivement. Cette étude sera complétée par une analyse en cellule unique avec la technologie Chromium pour identifier le sous-type cellulaire impliqué majoritairement dans la rechute et faire la « filiation » avec la tumeur d'origine.

3) Impact du microenvironnement

Les analyses précédentes seront réalisées en 2D et en 3D, ainsi que dans des environnements « riches » ou « pauvres » pour mimer respectivement un microenvironnement périvasculaire (15mM glucose, 2mM glutamine, 20% Oxygène) ou hypoxique (0.5mM glucose, no glutamine, 3% Oxygène). Cette étude sera également complétée par une caractérisation métabolique des différents modèles cellulaires (Seahorse, métabolomique et fluxomique au carbone<sup>13</sup>). En effet, il a été démontré, entre autres par notre équipe, que la plasticité métabolique mitochondriale des cellules de glioblastome pouvait permettre une adaptation de ces cellules à des conditions difficiles de croissance

Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :

Culture cellulaire, techniques de base de biologie moléculaire.  
Connaissances en biochimie et en bioinformatique sont un plus

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

[Identification of a transient state during the acquisition of temozolomide resistance in glioblastoma.](#)

Rabé M, Dumont S, Álvarez-Arenas A, Janati H, Belmonte-Beitia J, Calvo GF, Thibault-Carpentier C, Séry Q, Chauvin C, Joalland N, Briand F, Blandin S, Scotet E, Pecqueur C, Clairambault J, Oliver L, Perez-Garcia V, Nadaradjane A, Cartron PF, **Gratas C**, Vallette FM. Cell Death Dis. 2020 Jan 6;11(1):19. doi: 10.1038/s41419-019-2200-2. PMID: 31907355 Free PMC article.

[Impairing temozolomide resistance driven by glioma stem-like cells with adjuvant immunotherapy targeting O-acetyl GD2 ganglioside.](#)

Fleurence J, Bahri M, Fougeray S, Faraj S, Vermeulen S, Pinault E, Geraldo F, Oliver L, Véziers J, Marquet P, Rabé M, **Gratas C**, Vallette F, Pecqueur C, Paris F, Birklé S. Int J Cancer. 2020 Jan 15;146(2):424-438. doi: 10.1002/ijc.32533. Epub 2019 Jul 13. PMID: 31241171 Free article.

[NKG2D Controls Natural Reactivity of Vγ9Vδ2 T Lymphocytes against Mesenchymal Glioblastoma Cells.](#)

Chauvin C, Joalland N, Perroteau J, Jarry U, Lafrance L, Willem C, Retière C, Oliver L, **Gratas C**, Gautreau-Rolland L, Saulquin X, Vallette FM, Vié H, Scotet E, Pecqueur C. Clin Cancer Res. 2019 Dec 1;25(23):7218-7228. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0375. Epub 2019 Sep 10. PMID: 31506386

Collaborations nationales et internationales :

Plateforme GenoA pour étude génomique (RNAseq, Atac seq ...)

Plateforme Spectrométrie de masse