

## 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>Caractérisation de fusions génétiques dans le glioblastome et étude de leur ciblage thérapeutique par RNAi.</b>		3 mots-clés : Glioblastome ; Gènes de fusion ; RNAi
Unité/équipe encadrante : <b>UMR_S 1232 INSERM – CRCINA / Equipe 17 – GLIAD (Université d'Angers)</b>		
Directeur de thèse : <b>Dr Emmanuel GARCION / Pr Audrey ROUSSEAU (Directeur / Co-directeur)</b>		N° de tél : 02 44 68 85 43 (EG) 02 41 35 52 73 (AR) Mail : <a href="mailto:emmanuel.garcion@univ-angers.fr">emmanuel.garcion@univ-angers.fr</a> et <a href="mailto:audreygrousseau@gmail.com">audreygrousseau@gmail.com</a>
<b>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</b> Les glioblastomes (GB) sont des tumeurs primitives singulièrement agressives du système nerveux central (SNC). Avec une incidence croissante, atteignant jusqu'à 7 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants, leur approche thérapeutique usuelle n'a pratiquement pas évolué en trente ans et demeure palliative. Le traitement conventionnel consiste en une exérèse chirurgicale lorsque possible suivie d'une radiothérapie externe associée au Témzolomide. Malgré l'amélioration des techniques de neurochirurgie et de typage moléculaire, le pronostic du GB reste très défavorable avec une médiane de survie de 15 mois. Illustrant leur instabilité génomique, divers réarrangements chromosomiques majeurs peuvent conduire dans les GB à la juxtaposition de séquences codantes de deux gènes aboutissant à la formation de gènes de fusion potentiellement oncogéniques et contributeurs de la résistance au traitement tout comme permissoirs des récidives. L'identification de ces fusions et la validation des produits du gène (ARNm, protéine de fusion) en tant que cibles (intrinsèques ou capables de contrôler l'écosystème tumoral) ouvrent de nouveaux pans de recherche et d'innovation thérapeutique. Dans ce contexte, l'utilisation de l'interférence ARN (RNAi) associée au développement de nouvelles technologies locorégionales pour maîtriser la maladie (tout en évitant le problème de la barrière hémato-encéphalique et en réduisant la toxicité systémique), représente un défi technologique et offre des possibilités pour l'application d'une médecine de précision dont l'impact socio-économique est potentiellement important.		
<b>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</b> Si certains réarrangements chromosomiques dans le GB peuvent entraîner la perte de gènes suppresseurs de tumeurs et l'amplification d'oncogènes, alors la juxtaposition de séquences codantes de deux gènes peut également conduire à la formation de gènes chimériques à potentiel oncogénique. L'identification de la fusion FGFR3-TACC3 a permis dans le GB le développement de thérapies contre le domaine constitutivement actif de la tyrosine kinase (essai clinique européen de phase II TARGET, AstraZeneca, Jansen). Des études menées au sein de notre équipe en lien avec le Département de Pathologie du CHU d'Angers ont permis très récemment de sélectionner de nouveaux gènes de fusion candidats au travers d'une analyse prospective de détection par SNP array réalisée sur 205 patients. Le raffinement de l'analyse des résultats par séquençage de Sanger et RTqPCR nous a permis de démarrer ce projet en choisissant des cibles originales pertinentes (eg. EGFR-SEPT14, ...) et en développant des modèles cellulaires adaptées pour la compréhension du rôle de ces fusions et le développement d'outils pour la mise en place d'une nouvelle thérapie ciblée à leur égard ; une vectorisation protéique innovante de RNAi pour application locorégionale a également été mise en place. L'objectif du présent travail de thèse consistera à la finalisation de la << <b>Caractérisation moléculaire et fonctionnelle de ces nouvelles fusions génétiques dans le GB et l'étude de leur ciblage thérapeutique au travers d'une vectorisation protéique de RNAi</b> >>.		
<b>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</b> 1) Rôle constitutif fonctionnel et gain de fonction résultant de l'expression des protéines d'intérêts au sein de la cellule tumorale et de cellules saines. Des cellules de GB et des astrocytes ont été modifiées pour exprimer les fusions d'intérêt, leur fonctionnalité (prolifération, adhérence, migration, résistance aux radiations) seront étudiées par des techniques de biochimie, biologie cellulaire et moléculaires classiques. La bio-distribution cellulaire des protéines de fusion et les signaux modifiés/amplifiés qu'elles entraînent seront particulièrement investigués. 2) Impact <i>in vitro</i> d'une modulation exogène sur l'expression de ces protéines de fusions. La modulation de ces fusions par des siRNA désignés pour les cibler spécifiquement sera testée au travers de systèmes commerciaux disponibles (RNAiMax, NTER) et de nanoparticules siRNA/Argonaute-2 (AGO2) actuellement développées au laboratoire. Le lien avec des molécules chimiques existantes pourra être réalisé. 3) Impact <i>in vivo</i> au travers d'un implant locorégional à libération prolongée de RNAi ciblant ces fusions. Un ou deux modèles seront développés <i>in vivo</i> pour des investigations thérapeutiques au niveau préclinique utilisant les fusions génétiques identifiées et pour leur ciblage au travers du système de libération prolongée de siRNA caractérisé pour être le plus pertinent. Le gain de fonction au niveau d'astrocytes sains sera également testé quand à la tumorigénicité au regard du nombre de cellules injectées (lien avec 1).		
<b>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</b> Bio-ingénierie, Pharmacotechnie, Biologie moléculaire et cellulaire, Modèles expérimentaux <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> , Travail en équipe indispensable ! Motivation, Autonomie, Qualité orale et éditoriale		
<b>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</b> 1. Ah-Pine F, Casas D, Menei P, Boisselier B, Garcion E, Rousseau A. RNA-sequencing of IDH-wild-type glioblastoma with chromothripsis identifies novel gene fusions with potential oncogenic properties. <i>Translational Oncology</i> , 4 (2021) 100884. (IF: 3.558) 2. Anthoni S., Griveau A., Loussouarn C., Baril P., Garnett M., Issartel JP., Garcion E.. MicroRNA-based drugs for brain tumors. <i>Trends in Cancer</i> , 4 (2) (2018) 37-53. (IF: 8.884) 3. Séhédic D., Chourpa I., Tétaud C., Griveau A., Loussouarn C., Avril S., Legendre C., Lepareur N., Wion D., Hindré F., Davodeau F., Garcion E. Locoregional confinement and major clinical benefit of <sup>188</sup> Re-loaded CXCR4-targeted nanocarriers in an orthotopic human to mouse model of glioblastoma. <i>Theranostics</i> , 7 (18) (2017) 74517-4536. (IF: 8.537)		
<b>Collaborations nationales et internationales :</b> Patrick Baril, CBM, Orléans ; Moreno GALLEN, CIP, Liège ; Benjamin Lemasson, GIN, Grenoble ; Consortium GLIOSILK Euronanomed III ; LABEX IRON ; CGO.		