



UFR **SMBH** Santé, Médecine et Biologie Humaine

Galilée
École doctorale



Titre du projet: Evaluation de l'intérêt thérapeutique d'oligosaccharides dérivés de λ -carraghénane dans le traitement du carcinome hépatocellulaire

Equipe de recherche : Inserm U1148, Laboratory for Vascular Translational Science, *Groupe Biothérapies et Glycoconjugués* (<https://lvts.univ-paris13.fr>); Université Paris 13, UFR SMBH 74 Rue Marcel Cachin, 93000 Bobigny

Nom du directeur de thèse (50%): Angela Sutton (MCU-PH); angela.sutton@univ-paris13.fr; tél : 01.48.38.73.53
Co-encadrement (50%): Hanna Hlawaty (MCF); hanna.hlawaty@univ-paris13.fr; tél : 01.48.38.77.52

Contexte :

Le doctorant recruté dans notre équipe aura à développer une **approche glycobiochimique thérapeutique du carcinome hépatocellulaire (CHC)**, qui est la 5^{ème} tumeur maligne par ordre de fréquence. Les chaînes **héparane sulfate (HS)** fixent un grand nombre de chimiokines et de facteurs de croissance dans la matrice extracellulaire et à la surface cellulaire, influençant notamment la **croissance et la dissémination tumorale, et l'angiogenèse**, des processus majeurs impliqués dans le développement du CHC. L'héparanase, une endoglycosidase, clive les chaînes HS libérant ainsi des fragments d'HS, des chimiokines et des facteurs de croissance qui y étaient liés. L'héparanase favorise également le clivage de l'ectodomaine de certains protéoglycannes à HS de la surface des cellules tumorales. La sous-expression de l'héparanase par des oligonucléotides anti-sens ou par ARN interférence inhibe l'invasion, la formation de métastases et l'angiogenèse dans des modèles de CHC *in vitro* et *in vivo*. Ce projet est basé sur une stratégie d'inhibition de l'activité héparanase à l'aide d'oligosaccharides dérivés de carraghénanes (COS) extraits et purifiés par l'équipe CNRS UMR 7266 de l'Université de La Rochelle, afin de réduire les propriétés tumorales du CHC *in vitro* et *in vivo*.

Objectifs :

Ce projet original vise à comparer les effets de 3 COS différant par leur taille et leur degré de sulfatation sur leur capacité:

A/ à inhiber les propriétés tumorales de cellules hépatiques *in vitro*: prolifération, migration et invasion, formation de colonies cellulaires en agar mou

B/ à élucider les mécanismes moléculaires et cellulaires associés aux propriétés anti-tumorales des COS: 1) cycle cellulaire en (cytométrie en flux), expression du gène de la cycline D1 (qRT-PCR) et de l'antigène nucléaire Ki67 (cytométrie en flux et immunocytochimie); 2) Expression des gènes de l'héparanase, des MMP-2 et MMP-9, et des syndécannes (qRT-PCR), des ectodomains des syndécannes (dot-blot), activité héparanase (FRET), activités MMP-2 et MMP-9 (zymographie); 3) Mesure du stress oxydant (fluorimétrie), expression de gènes d'enzymes antioxydantes (qRT-PCR), activités enzymatiques (gel d'activité ou spectrophotométrie); 4) affinités entre COS et chimiokines (résonance plasmonique de surface)

C/ à inhiber le développement tumoral dans un modèle de xénogreffe de cellules de CHC chez la souris Nude, développé en collaboration avec le Dr F. Degoul (CR INSERM, UCA, Auvergne). 1) L'effet thérapeutique de chaque COS sera évalué sur les mesures macroscopiques du volume, du poids, du diamètre, de l'épaisseur des tumeurs; 2) L'utilisation de COS radioactifs permettra de suivre par imagerie du petit animal *in vivo* la distribution en fonction du temps de ces COS dans la tumeur; 3) L'effet des COS sur la prolifération et l'apoptose tumorale sera évalué par histologie et immunohistochimie (Ki67, p53, p21, p27, TUNEL); 4) L'effet des COS sur la dissémination locale par invasion tissulaire sera évalué par immunohistochimie par marquages tissulaires des MMP-2 et MMP-9 et l'activité MMP sera mesurée par zymographie *in situ*; 5) L'effet des COS sur la vascularisation des tumeurs sera évalué par la mesure du taux de VEGF intra-tumoral en ELISA et par détection en immunohistochimie des cellules endothéliales à l'aide d'isolectine B4, des récepteurs pro-angiogéniques exprimés par les cellules vasculaires: récepteurs au VEGF, au FGF, aux chimiokines CXCL12 et CCL5, à l'aide d'anticorps spécifiques.

Environnement : 1 PU-PH, 1 PU, 2 MCU-PH, 3 MCF, 1 AHU, 1 IGE, 1 AI, 1 Technicien, 1 Doctorant, Masters