

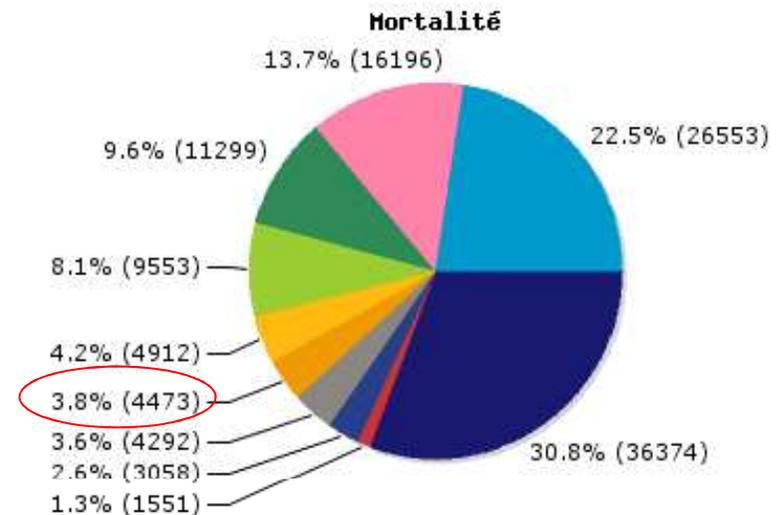
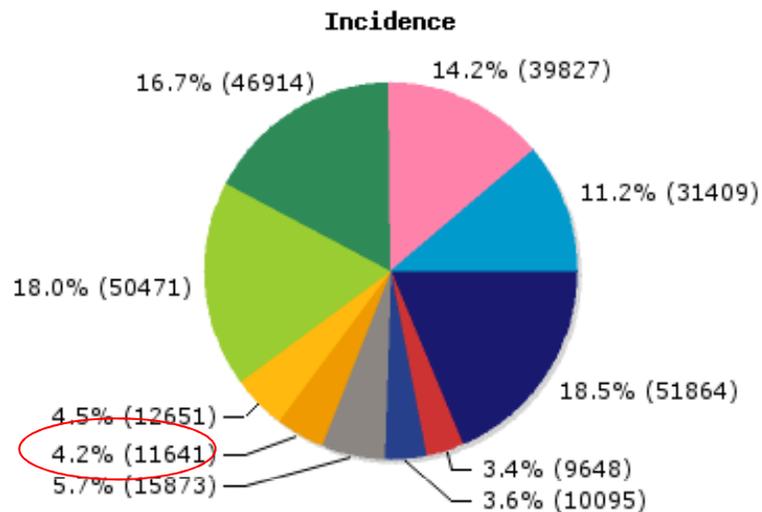


Twist : nouvelle cible thérapeutique dans le cancer de la vessie

Journée de la SFPO 14 octobre 2010
Hôpital Saint Louis
Barbara Lortal



Le cancer de la vessie en France



7^{ème} cancer en terme d'incidence en France

Incidence :85% hommes et 15% de femmes

La mortalité 77% hommes et 23% de femmes



Le cancer de la vessie et métastases

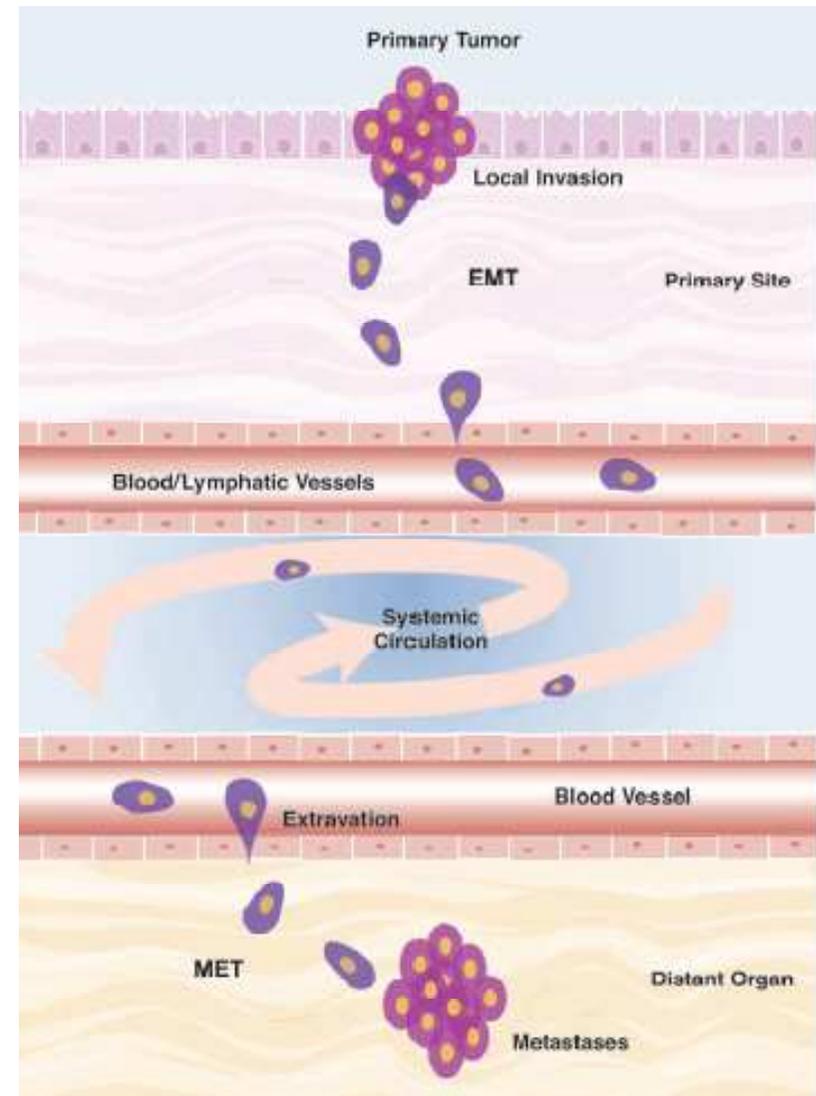
- Le cancer de la vessie est un cancer fortement métastatique

- Difficulté de traitement
- Difficulté de classification
- Progression
- Décès

- Les métastases sont issues du phénomène d'EMT

- ↗ N et ↘ E cadhérines
- ↗ mobilité
- ↗ prolifération
- ↗ invasion tumorale

Miyaki et al, Oncogene. 1995





Sur les 70 biopsies tumorales (IHC) de cancer de la vessie

- 16 (23%) E-cadhérine -
 - 12 (17%) N-cadhérine +
 - 28 (40%) les cellules exprimaient un facteur de transcription lié à l'EMT: Twist 1 +
-
- Twist est associé avec le stade, le grade et la progression
 - Corrélation entre expression de Twist 1 et le tabagisme



Twist : Rôles en cancérologie

- Transition EMT → métastases

(Thiery et al, Nat Rev Cancer 2002 ; Ansieau et al, Cancer Cell 2008)

- Oncogène inhibant l'apoptose

(Maestro et al, Gene and Development 1999)

- Inhibiteur de l'apoptose par interaction avec la voie p53

(Shiota et al, Oncogene 2008)



Hypothèses

- Inhibition de twist

- inhibition de l'EMT → perte d'invasivité

- induction de l'apoptose → re-sensibilisation aux médicaments



Plan

- Caractérisation des différentes lignées de tumeurs de vessie pour:
 - Twist1
 - EMT (E et N cadhérines)
 - p53
- Rôle de Twist1 dans la sensibilité aux traitements
- Rôle de Twist dans l'invasion



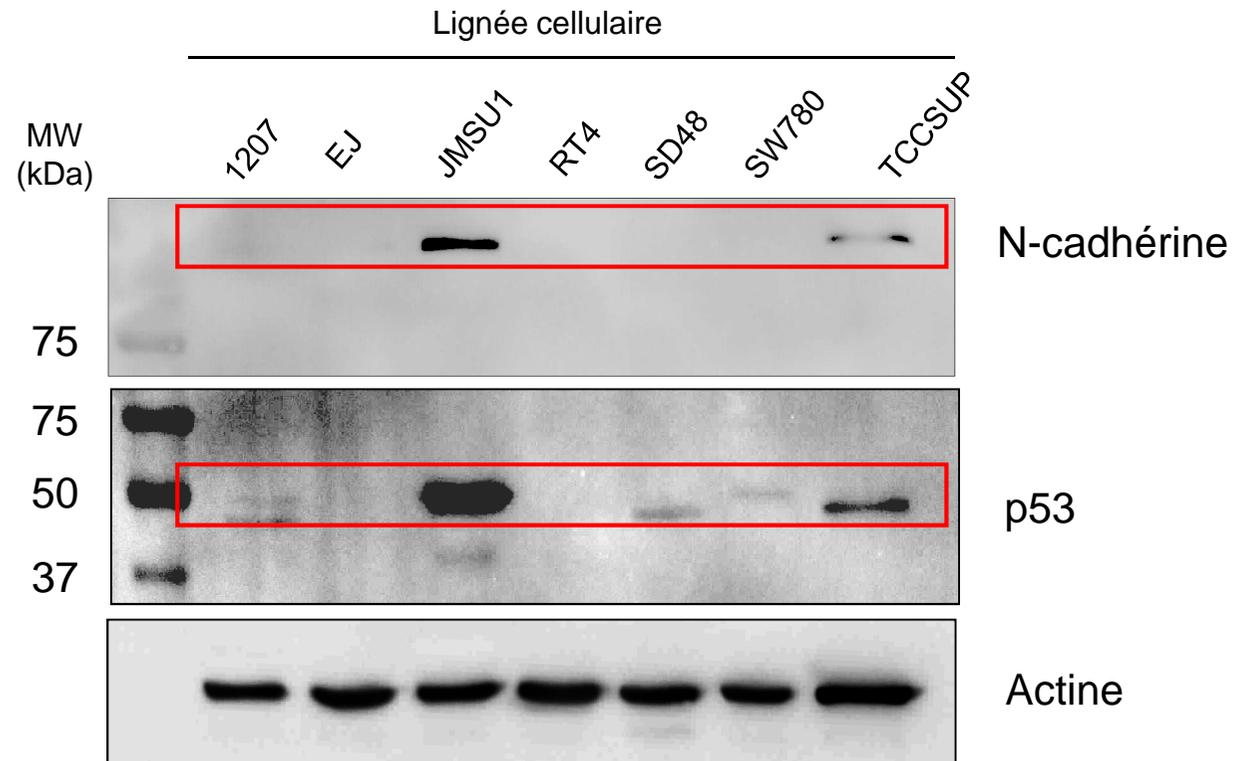
Plan

- Caractérisation des différentes lignées pour
 - Twist1
 - EMT (E et N cadhérines)
 - p53
- Rôle de Twist1 dans la sensibilité aux traitements



Caractérisation des lignées

Dépôt de 50µg de protéines - Gel 12% - Lignées WT sans traitement

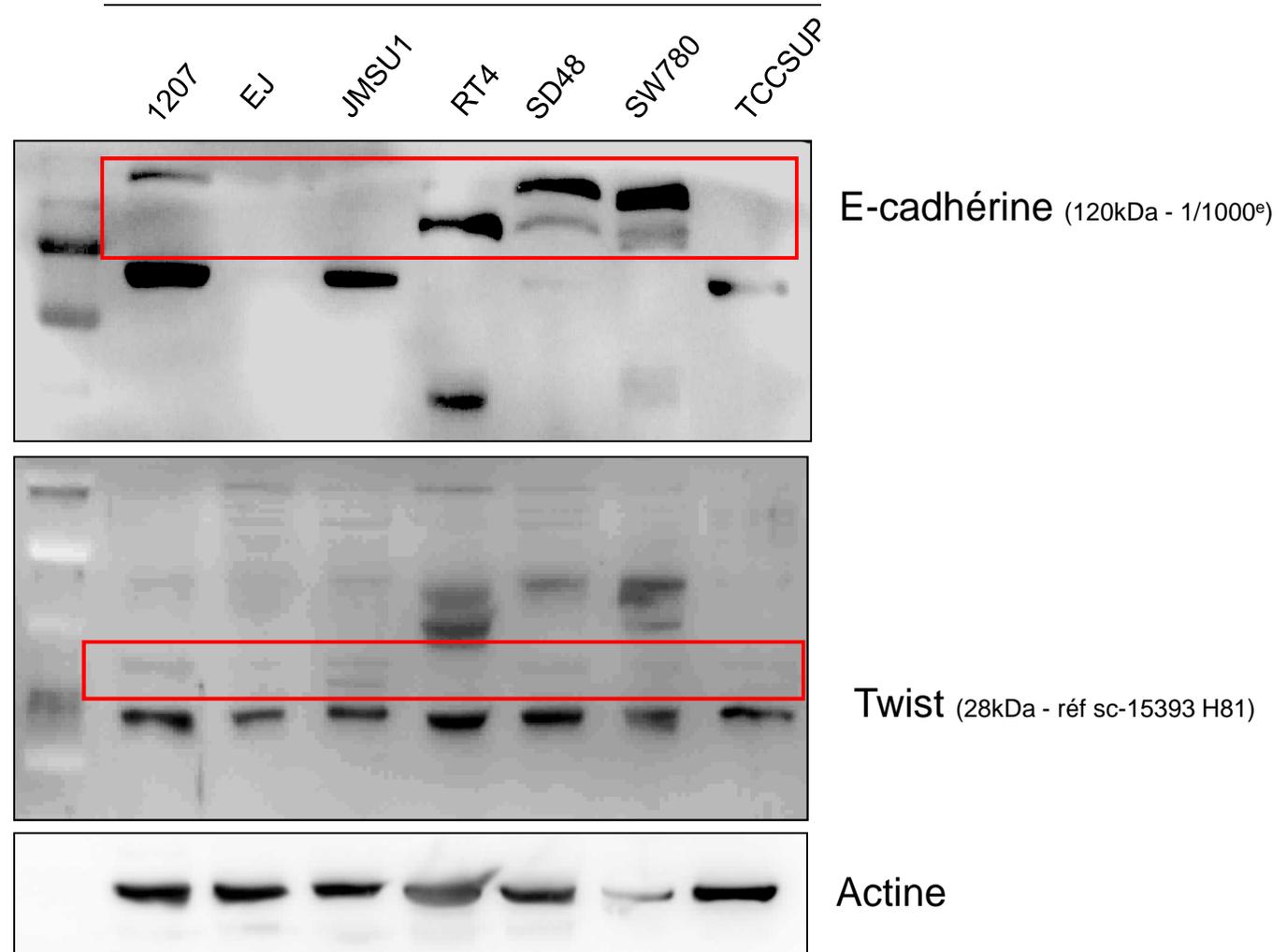




Caractérisation des lignées

Dépôt de 50µg de protéines

Lignée cellulaire





Caractérisation des lignées

Synthèse des résultats

	1207	EJ	JMSU1	RT4	SD48	SW780	TCCSUP
N cadherine	-	-	+++	-	-	-	+
E cadherine	+	-	-	+	+++	+++	-
p53	+	-	+++	-	+	+	++



Caractérisation des lignées

Problème de visualisation de la protéine Twist

- Changer la manière d'extraire les protéines
- Modifier les quantités déposées, et la quantité d'anticorps primaire
- Changer d'Ac I^{aire}
- Utilisation de l'Immunofluorescence
- Utilisation de cellules transfectées par un vecteur Twist

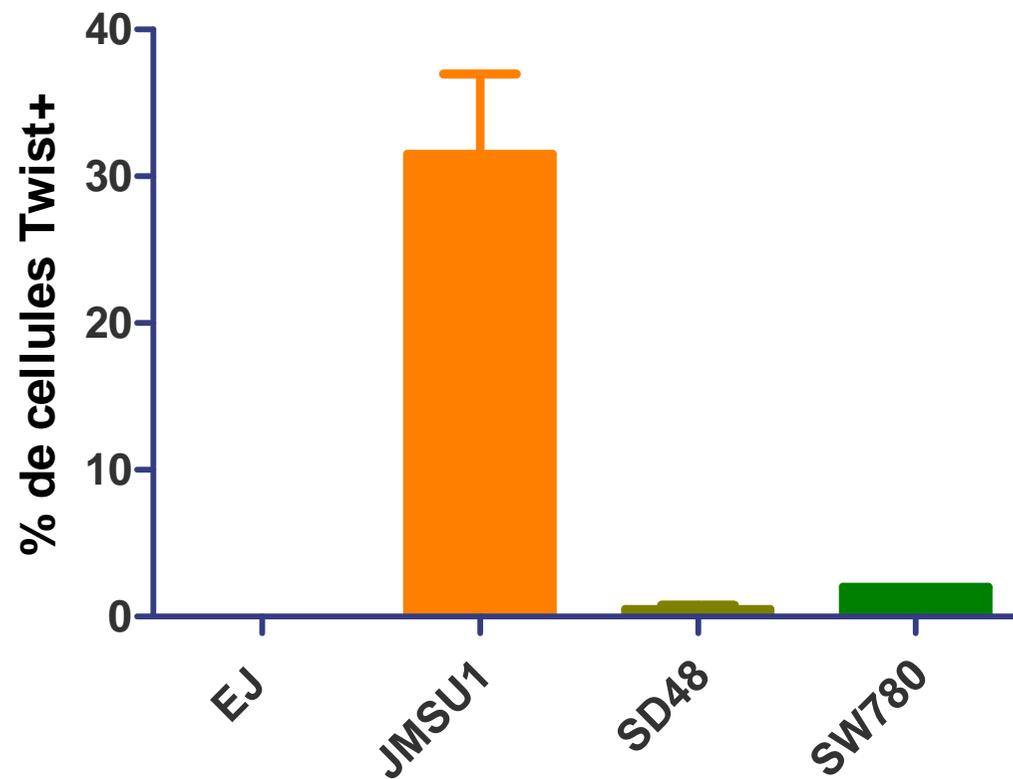


Niveau d'expression de Twist1 en IF

	Lignées cellulaires			
	EJ	JMSU1	SD48	SW780
Ac II ^{aire} seul				
Ac Anti-Twist 1/100 ^e				
Expression de Twist 1	-	+++	-	-



Quantification à partir de l'IF du nombre de cellules exprimant Twist1



Une lignée Twist1+ : JMSU1



Plan

- Caractérisation des différentes lignées pour
 - Twist1
 - EMT (E et N cadhérines)
 - p53
- Rôle de Twist1 dans la sensibilité aux traitements



Choix des drogues

CISPLATINE:

- Drogue de base utilisée pour traiter les cancers de la vessie
- Alkylant → liaison à ADN
- Suppression de Twist1 par siRNA dans lignées A549
→ augmentation sensibilité au cisplatine

(Zhuo W.L et al Biochemical and Biophysical Research 2008)

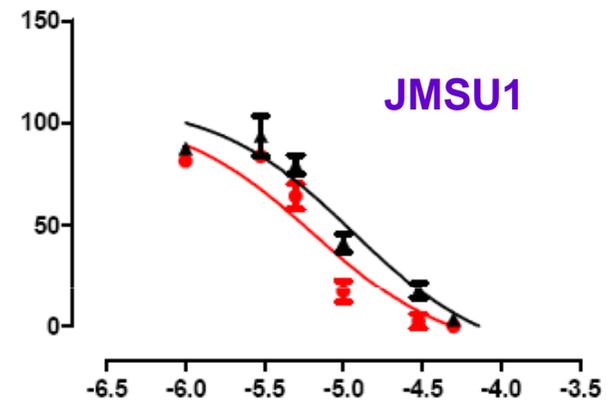
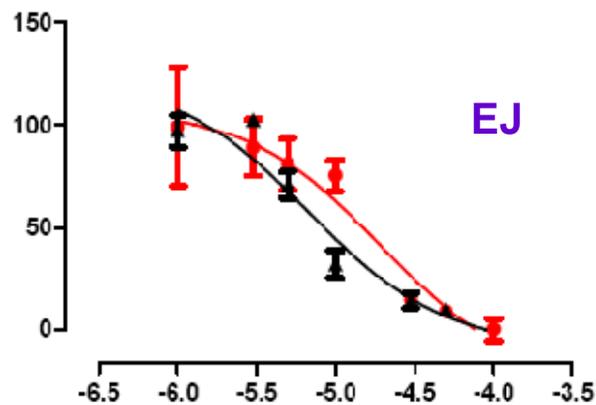
MOLECULE AZ:

- Inhibiteur des tyrosines kinases SRC/abl

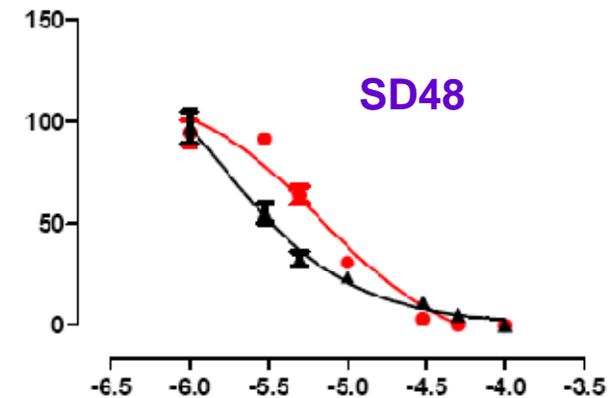
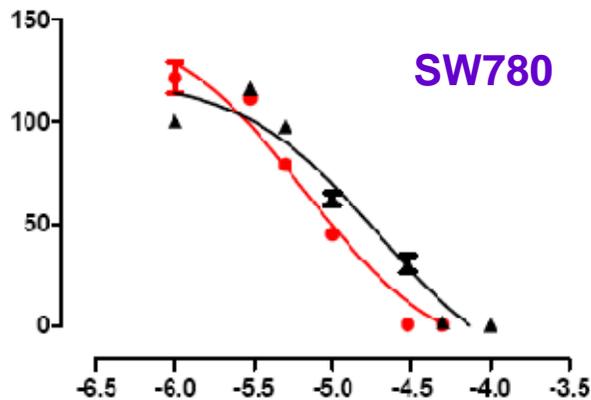


Traitements sur temps long

Tests de survie au MTT réalisés 24h après traitement de 4 lignées par des concentrations croissantes de Cisplatine et d'Az pendant 24h.
(lectures de DO à 560 et 630nm)



● cispl
▲ az





Traitements sur temps long

Traitement pendant 24h par AZD0530 et cisplatine

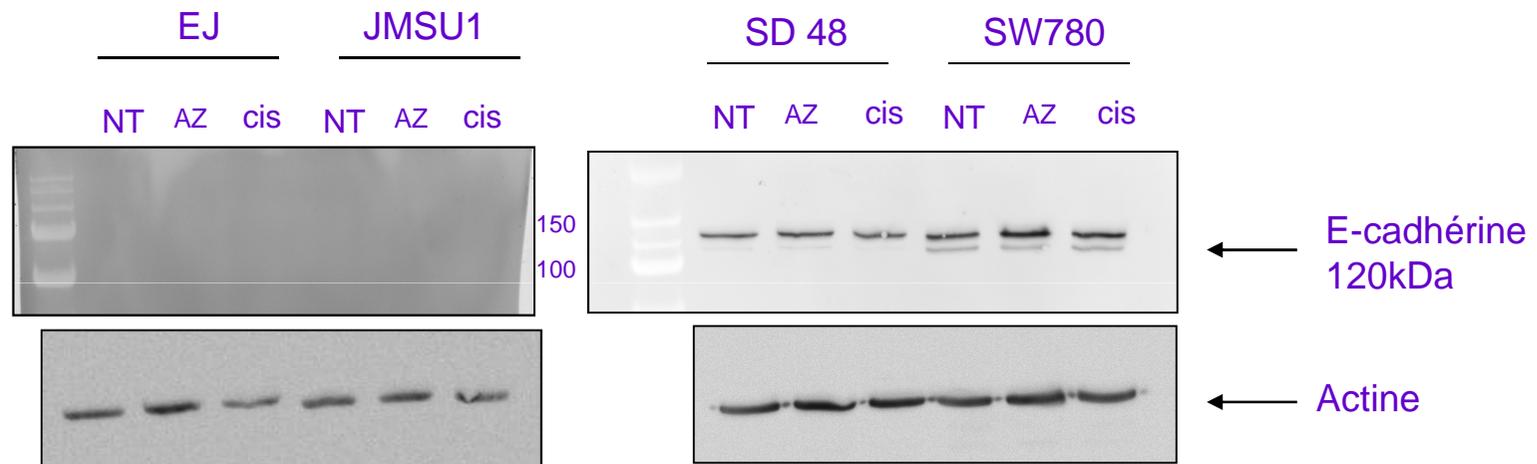
Lignée cellulaire		EJ	JMSU1	SD48	SW780
IC50	Cisplatine	19,93 μ M	6,49 μ M	6,77 μ M	6,77 μ M
	Az	6,74 μ M	11,6 μ M	1,43 μ M	19,47 μ M
Niveau d'expression	Twist 1	-	+++	-	-
	E cadhérine	-	-	+++	+++
	N cadhérine	-	++	-	-

Pas de corrélation significative entre l'expression de Twist1 et la résistance au cisplatine ou à l'az



Traitements sur temps long

Traitement sur 24h avec les doses correspondants aux IC50



- Augmentation de l'expression de E cadherine sous traitement par Az dans les cellules l'exprimant
- Pas d'apparition d'expression de la E cadherine dans les cellules ne l'exprimant pas



Perspectives

- Mise au point des siRNA anti-Twist1
- Utilisation de l'inhibition d'expression ou la surexpression de Twist1
- Caractérisation lignées pour l'EMT (E et N cadhérines) et le statut p53.
- Invasivité, EMT



MERCI DE VOTRE ATTENTION



Voie SRC/ABL et STAT3

