Prix de bourse SFPO/ Académie de pharmacie

IDENTIFICATION D'ADAM 9 EN TANT QUE MEDIATEUR DE LA DISSEMINATION METASTATIQUE INDUITE PAR LE STRESS OXYDANT ET EVALUATION DE MODULATEURS PHARMACOLOGIQUES DE CE PROCESSUS

Céline MONGARET

Laboratoire d'accueil : EA 1833

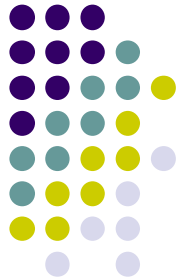
Ecole doctorale GC2ID

Responsables de stage : Dr F. LEMARE, Dr J. ALEXANDRE

Directeur du laboratoire d'accueil: Dr B. WEILL

PARIS DESCARTES

LE STRESS OXYDANT



Formes Réactives de l'Oxygène (FRO) et cancer :

- ✓ Concentration augmentée dans les tissus cancéreux
- ✓ Implication dans l'oncogenèse :
  - Prolifération, survie des cellules cancéreuses
  - Invasion des cellules cancéreuses

LES PROTEINES ADAM
(A disintegrin And Metalloprotease)

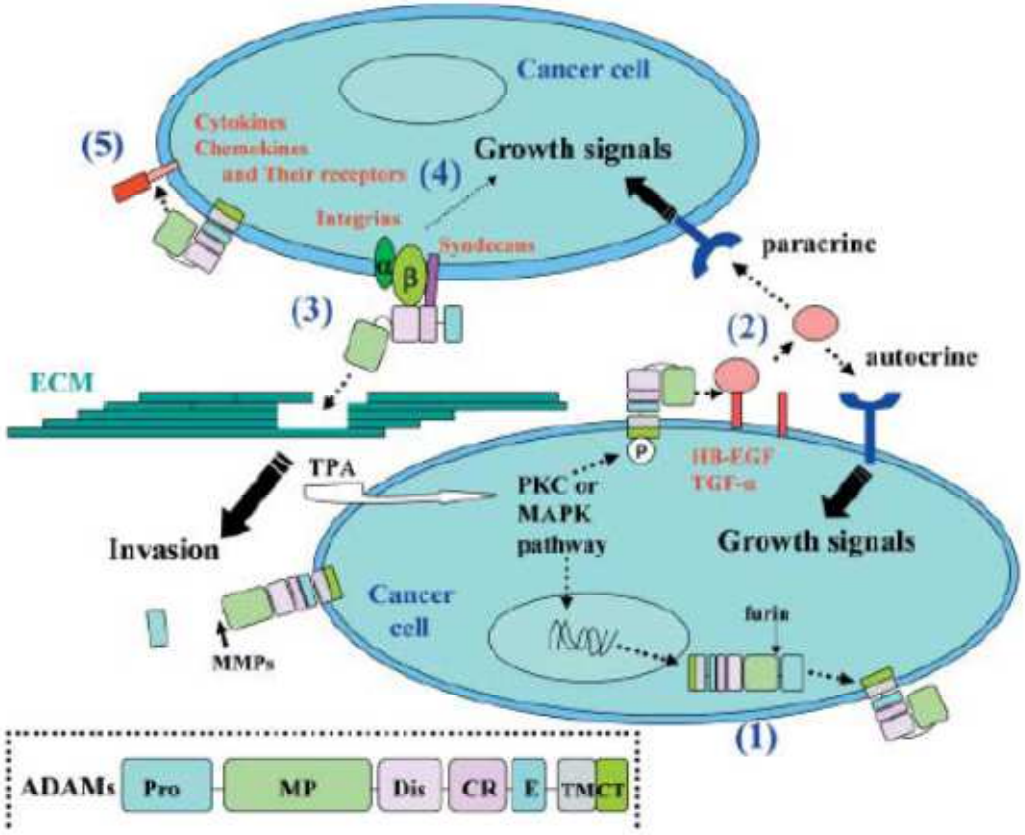


Figure 1 : Récapitulatif de l'implication des protéines ADAM dans la biologie de la cellule cancéreuse[3]

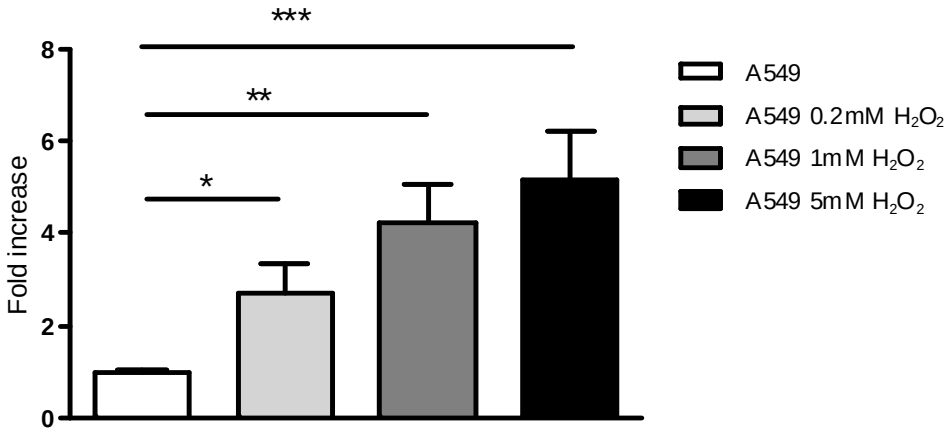
- Activation d'ADAM par clivage du **pro domaine**
- **Domaine métalloprotéasique** :
  - clivage de plusieurs ligands tels que l'HB EGF, le TNF => signaux de prolifération
  - dégradation de l'ECM
  - clivage de la région membranaire de certaines cytokines, chemokines et leurs récepteurs
- **Région riche en cystéine** et son domaine **disintégrine** => Adhérence cellule/cellule, cellule/ ECM

Surexpression d'ADAM9 dans de nombreux cancers (sein, rein, prostate, colon…)

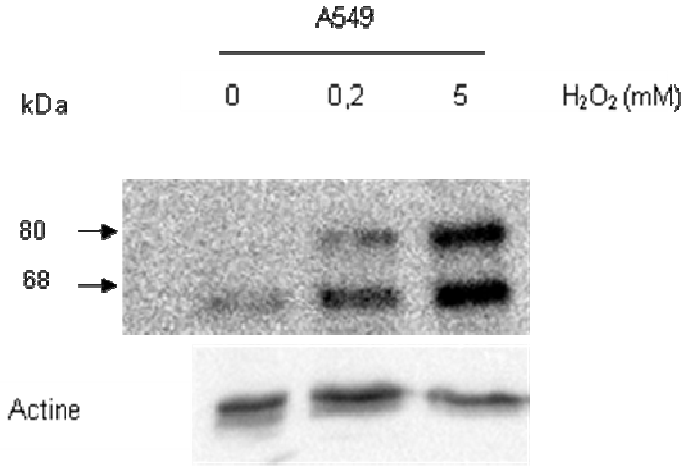
3 Mochizuki S et al. *Cancer Sci.* 2007

RESULTATS OBTENUS

- Expression d'ADAM9 et activité ADAM spécifique sur les cellules d'adénocarcinome pulmonaire exposées au H_2O_2



Activité ADAM spécifique



Expression d'ADAM 9 transmembranaire et d'ADAM9 secrétée

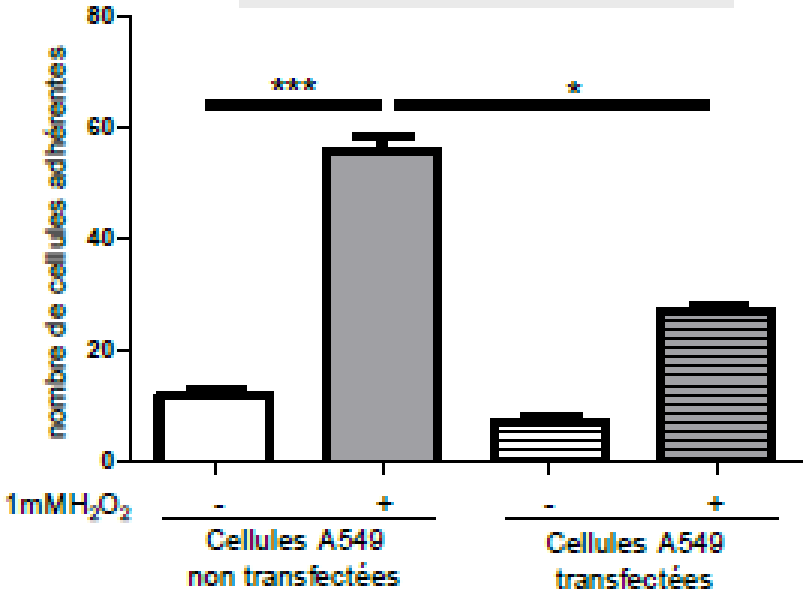
L'activité métalloprotéasique et l'expression des 2 isoformes d' **ADAM9 augmentent** de façon concentration dépendante en présence d'H_2O_2.

Mongaret C. et al. *Int J Cancer, 2010.*

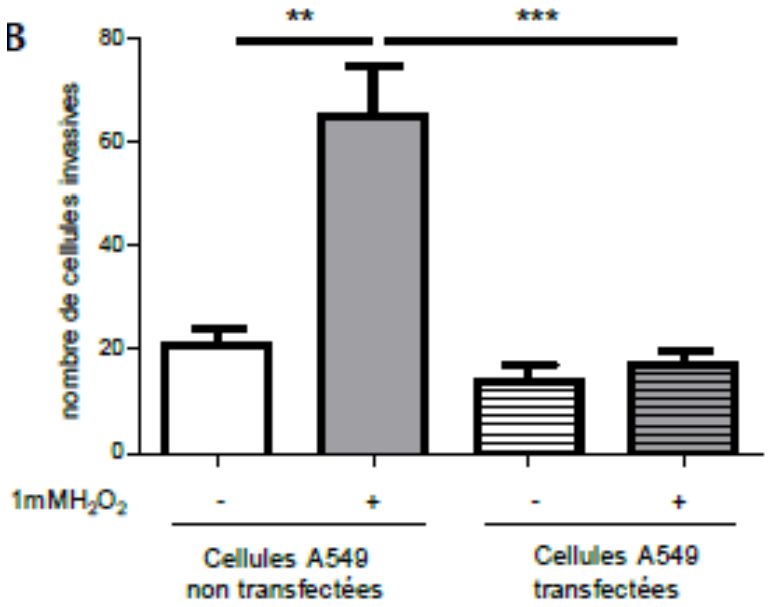
RESULTATS OBTENUS

- Implication d'ADAM9 dans l'invasion et l'adhérence induite par H_2O_2

ADHERENCE *in vitro*

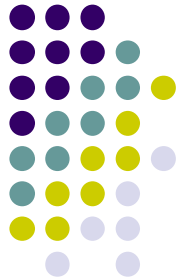


INVASION *in vitro*



Les cellules n'exprimant plus la protéine ADAM9 ont une **diminution d'adhérence et d'invasion** induite par l'H_2O_2

Implication de la protéine SRC et de la PKC dans le mécanisme de régulation d'expression d'ADAM9



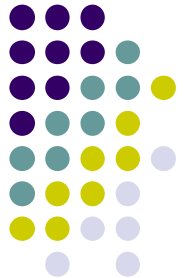
- Activité métalloprotéasique d 'ADAM9 modulée par la PKC :
  - phosphorylation du domaine intracytoplasmique de la protéine [4]

- Protéine SRC modulée par le stress oxydant :
  - FRO au niveau des cellules cancéreuses de colon activation de la protéine SRC.
  - Diminution de la prolifération et de l'angiogenèse des cellules cancéreuses par le le dasatinib, inhibiteur de la protéine SRC [5]

4 : Izumi et al, A metalloprotease-disintegrin, MDC9/meltrin-gamma/ADAM9 and PKCdelta are involved in TPA-induced ectodomain shedding of membrane-anchored heparin-binding EGF-like growth factor, *EMBO J.*1998

5 : Kopetz S et al, Synergistic activity of the SRC family kinase inhibitor dasatinib and oxaliplatin in colon carcinoma cells is mediated by oxidative stress, *Cancer Res.* 2009

OBJECTIF DES TRAVAUX A VENIR



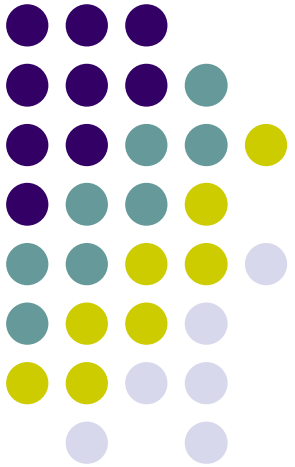
- Implication de la voie de signalisation SRC et PKC dans la modulation d'expression d'ADAM9 *in vitro* à l'aide d'inhibiteurs qui sont respectivement le dasatinib et la staurosporine

- Mise au point d'un modèle *in vivo* de métastases pulmonaires

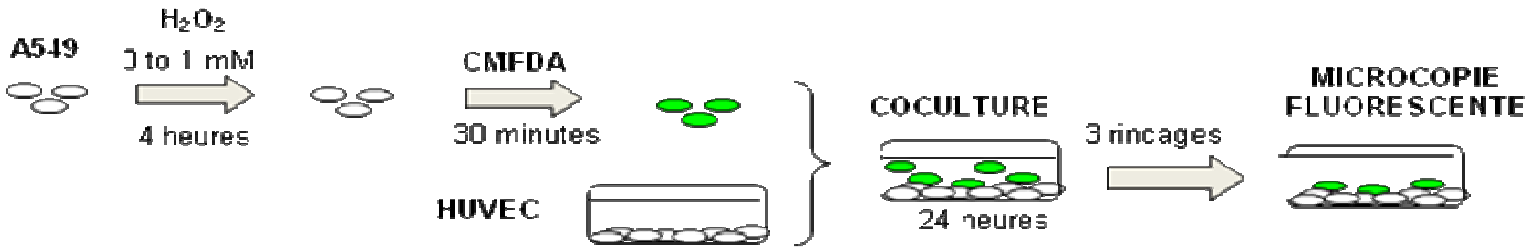
  Injection en intraveineux de cellules cancéreuses pulmonaires plus ou moins transfectées avec un ARN interférent stable ADAM 9

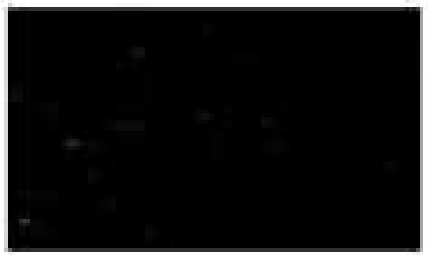
- Evaluation pharmacologique de traitements anti-ADAM9 sur le modèle de métastases *in vivo* selon 3 stratégies distinctes:
  - Le dasatinib : inhibiteur de la protéine SRC
  - La staurosporine : inhibiteur de la PKC
  - Blocage par un anticorps dirigé contre l'ectodomaine d'ADAM9

Merci de votre attention

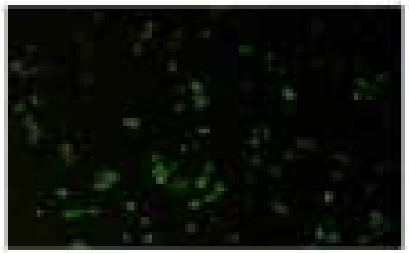


Technique d'adhérence *in vitro*

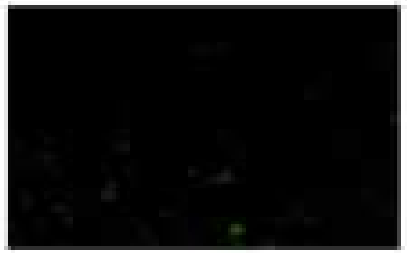




Cellules A549

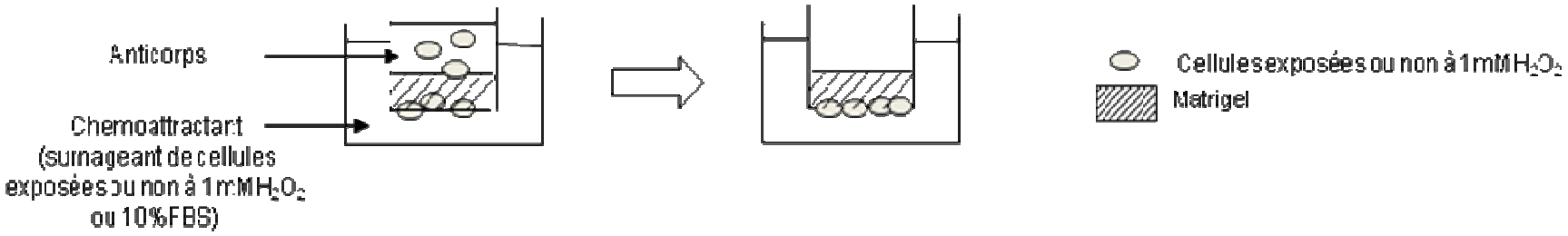


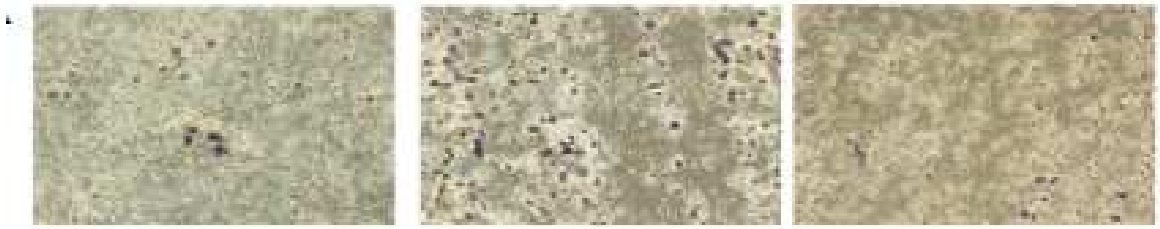
Cellules A549 + 1mM H_2O_2



Cellules A549 transfectées + 1mM H_2O_2

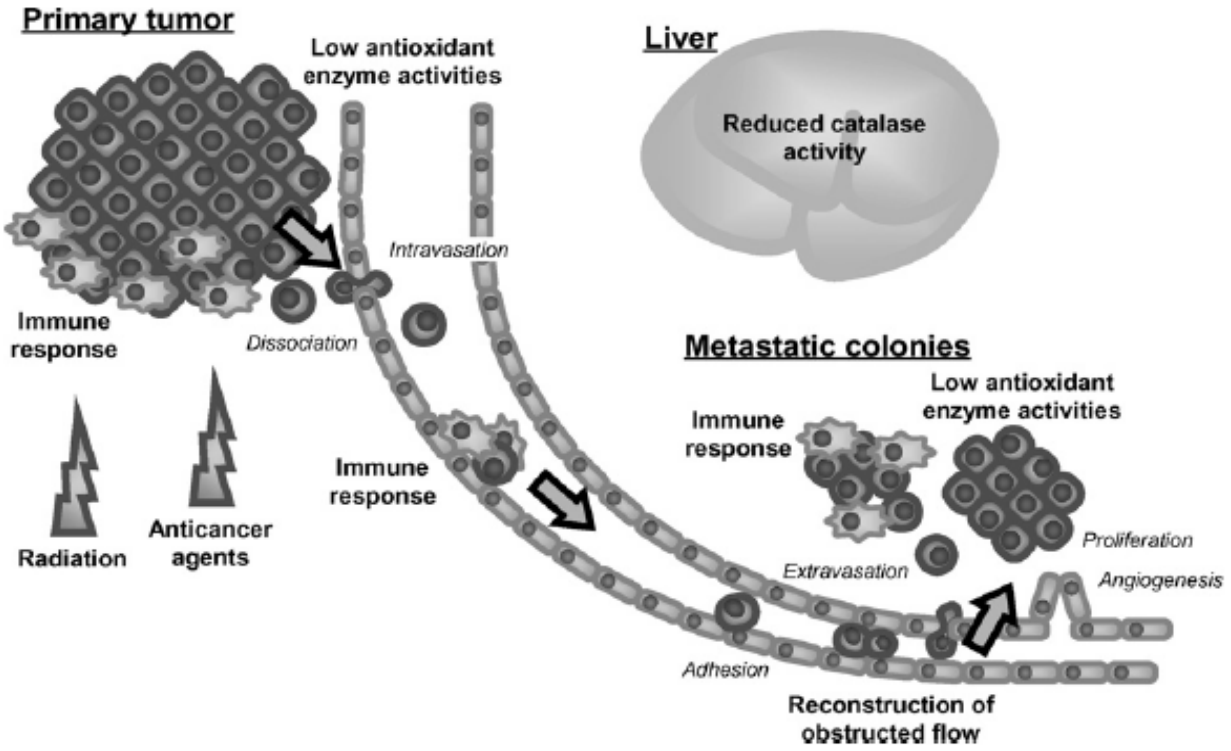
Technique d'invasion *in vitro*





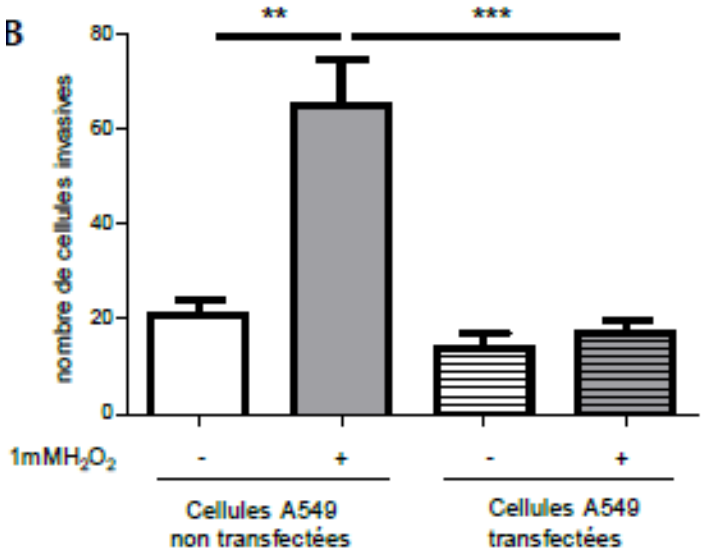
Cellules A549 | Cellules A549 + 1mM H_2O_2 | Cellules A549 transfectées + 1mM H_2O_2

STRESS OXYDANT ET INVASION TUMORALE



Source de taux élevés en FRO dans l'environnement des cellules cancéreuses induisant un potentiel métastatique[3].

Implication d'ADAM9 dans l'invasion induite par l'H2O2



Les **cellules n'exprimant plus la protéine ADAM9** ont une **diminution d'invasion** induite par l'H2O2