

DE LA RECHERCHE À L'INDUSTRIE

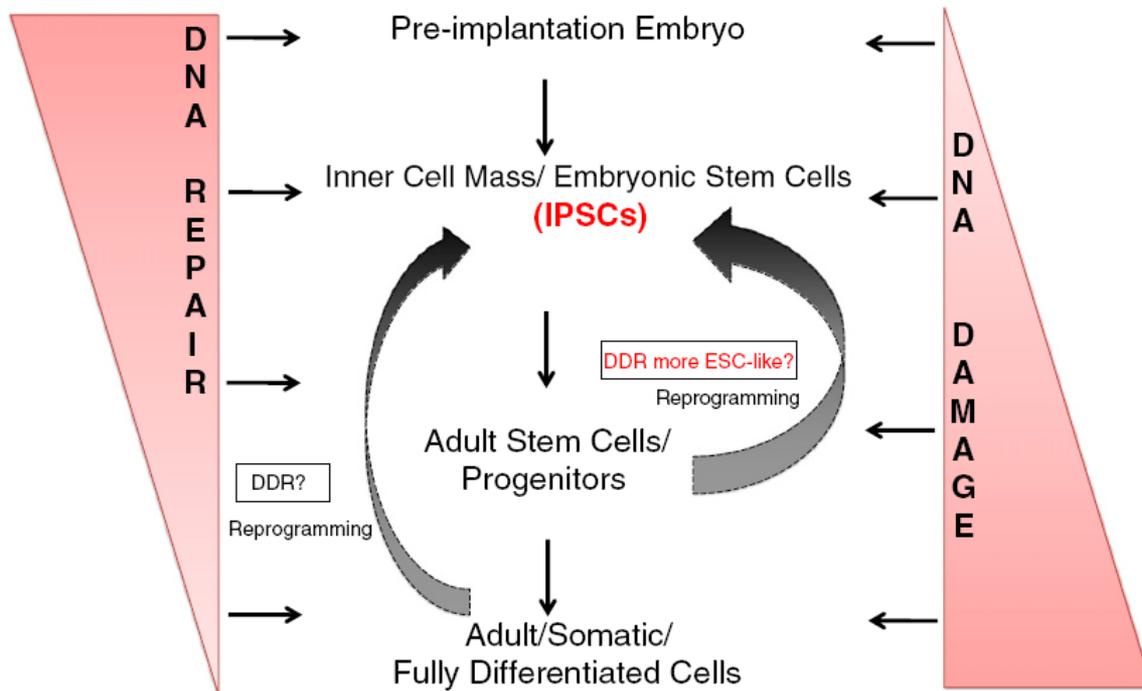


Importance des cellules souches dans la réponse aux radiations ionisantes

Cellules souches

Embryonnaires (ESC)
Adultes /tissu spécifiques (SC)
Cancéreuses (CSC)

Propriétés fondamentales :
- Auto-renouveaulement
- Génération de cellules différenciées



Réponses à l'irradiation des cellules souches

Arrêt du cycle en G2/M
Réparation par HR
Faible instabilité génétique

Cellules cancéreuses de type souche « stem-like cancer cells »

CSC

- Tumorigénicité accrue
- Propriétés invasives (métastases)
- Capacité de prolifération augmentée
- Caractère « souche » réversible
(Mécanismes épigénétiques)

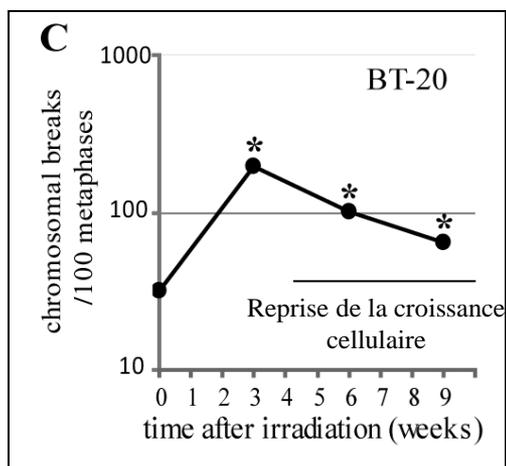
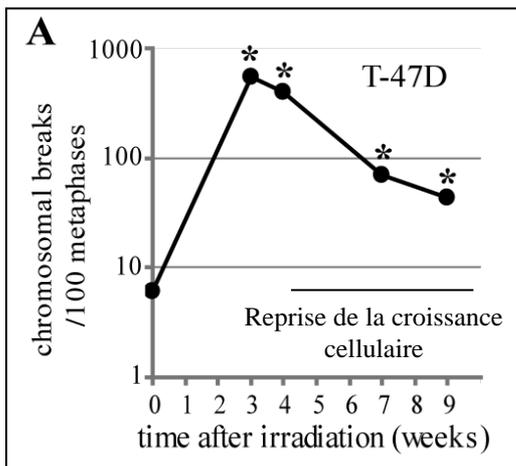
CSC à la base de la résistance thérapeutique ?

- Chimiorésistance ?
- Radiorésistance ?



Au sein d'une population cellulaire, une partie des cellules ne présenterait pas les mêmes caractéristiques que le reste des cellules

Instabilité radioinduite transgénérationnelle

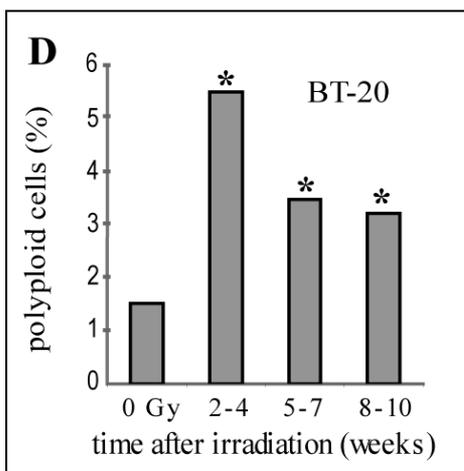


Forte mortalité / instabilité pendant 2 à 4 semaines

Effets observés après irradiation à 2, 4 et 10 Gy.

Pendant plus de 35 doublings de population.

Irradiation de 10 Gy



Les effets de l'irradiation ne se limitent pas aux cellules directement irradiées, mais sont visibles, pendant plusieurs générations, dans les cellules descendantes.

Littérature

CANCER DU SEIN :

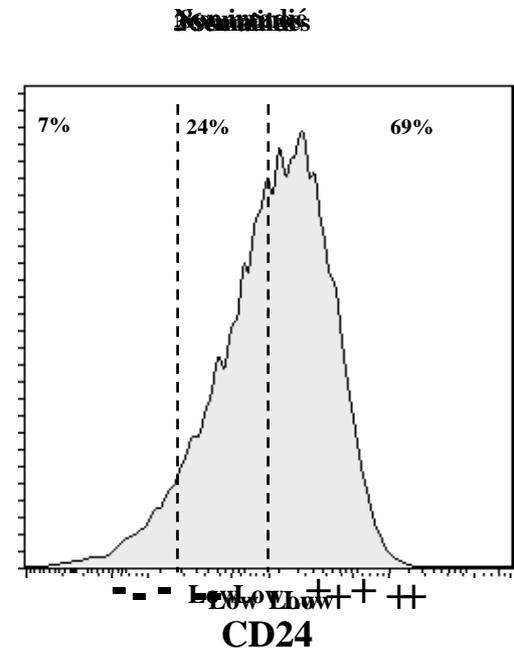
différents marqueurs pour définir les CSC :

- Marqueurs membranaires : CD44, CD24, CD133, PROCR, ESA
- Activités enzymatiques : ALDH, SP (ABCG2)



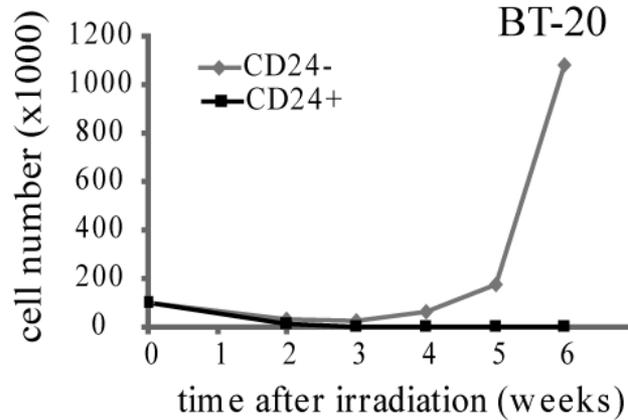
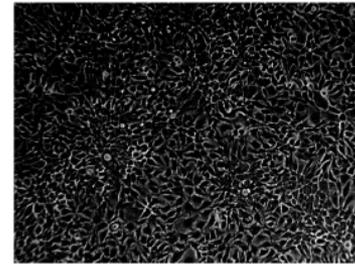
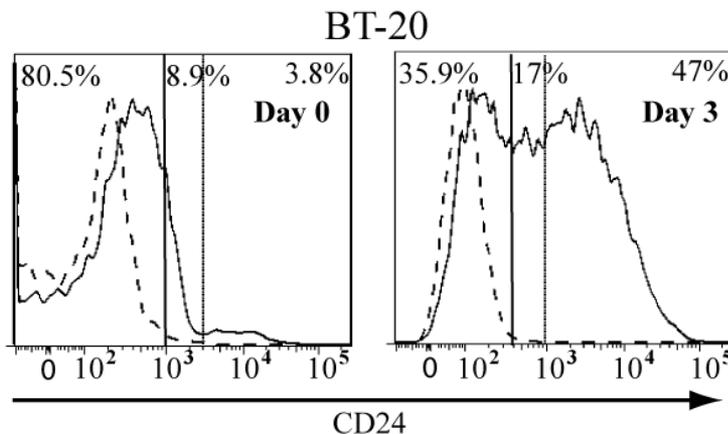
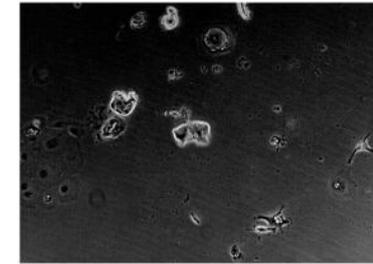
Seule variation observée :
augmentation d'une
sous population de
cellules CD24^{-low}

BT20
Irradiation
10 Gy



Sélection transitoire de cellules radiorésistantes présentant des caractéristiques de type souche

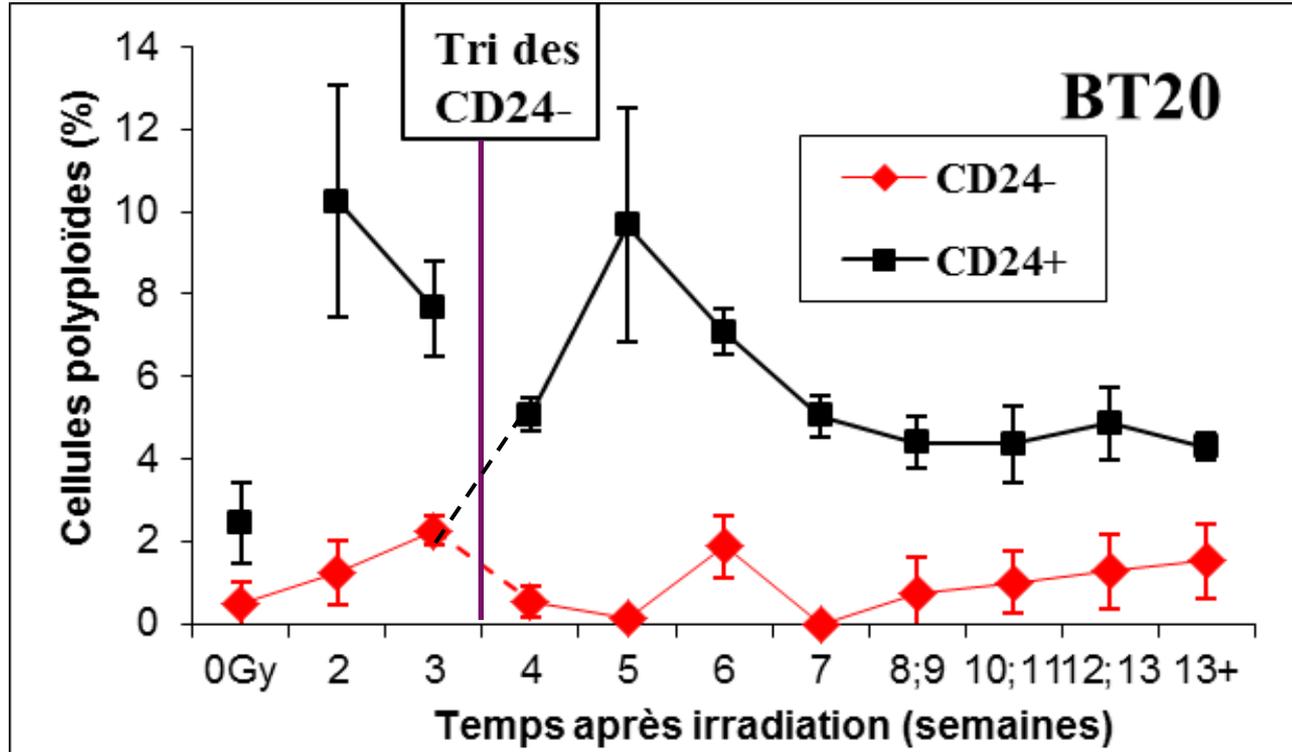
Propriétés intrinsèques des CD24⁻ et effets de l'irradiation

CD24⁻CD24⁺

La descendance des cellules irradiées provient exclusivement des cellules CD24^{-/low}

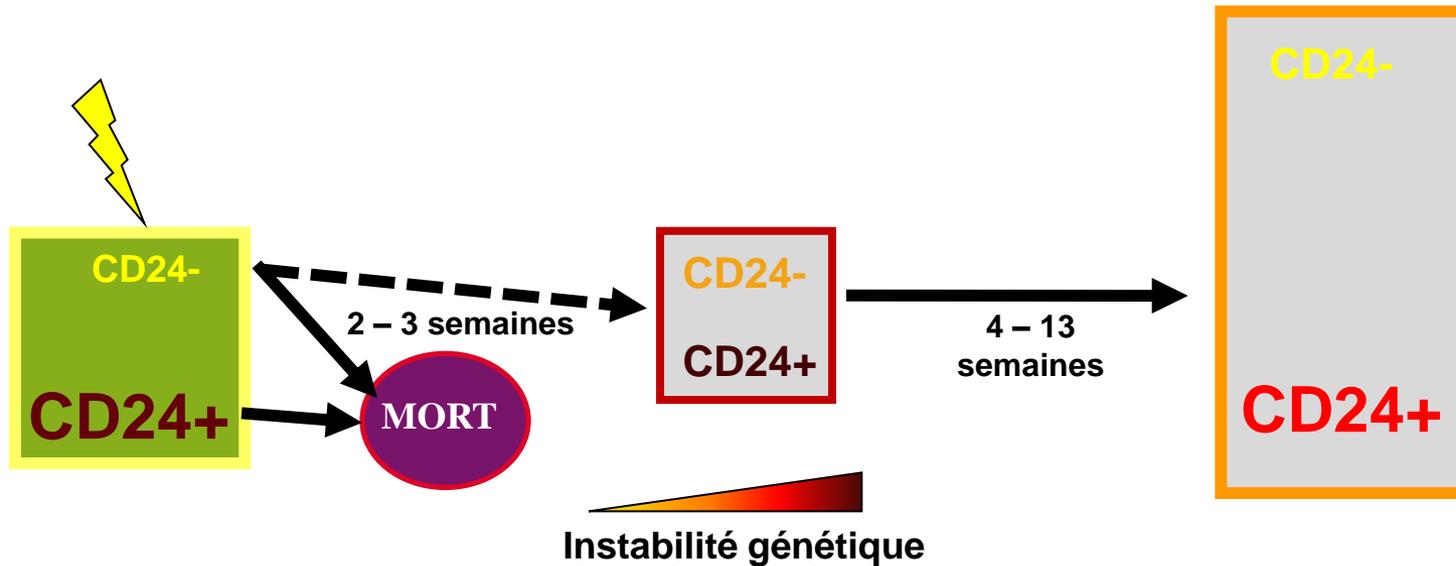
La capacité des cellules CD24^{-/low} de se différencier en cellules CD24⁺ conduit à la reconstitution du ratio CD24^{-/low} / CD24⁺ dans la descendance

Rôle des cellules CD24⁻ dans le maintien d'une instabilité chromosomique radioinduite



L'instabilité génomique persistante est transmise par les cellules CD24^{-low} et exprimée par les cellules CD24⁺

Conclusion



Modèle de transmission de l'instabilité chromosomique

L'instabilité est observée dans les cellules CD24+ mais est transmise par les cellules CD24-

➔ Les cellules CD24- : siège d'une mémoire de l'irradiation ?
Mécanisme épigénétique de transmission de l'instabilité ?

Pour la première fois : rôle des cellules CD24- dans un effet non ciblé des radiations ionisantes

CD24 marqueur ou acteur de la réponse à l'irradiation ?

CD24 : Marqueur très utilisé avec CD44 pour définir les CSC mammaires (CD24-/CD44+)

Rôle biologique quasi inconnu

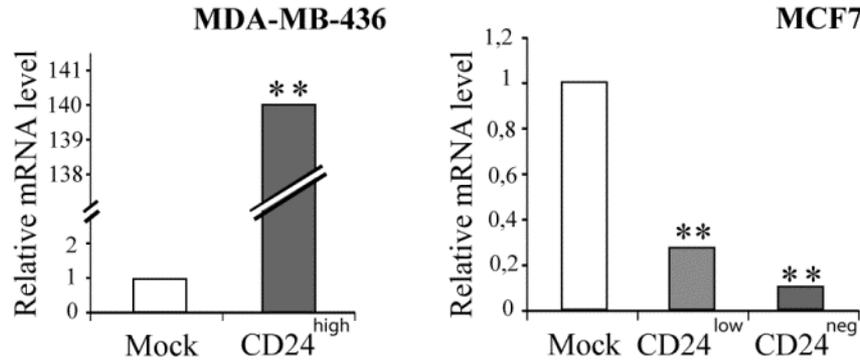
Pas de corrélations claires entre l'expression de CD24 et des facteurs histo-pathologiques, le grade, les métastases, le traitement, la survie ...

Pas d'étude sur le rôle de CD24 comme acteur de la réponse à l'irradiation



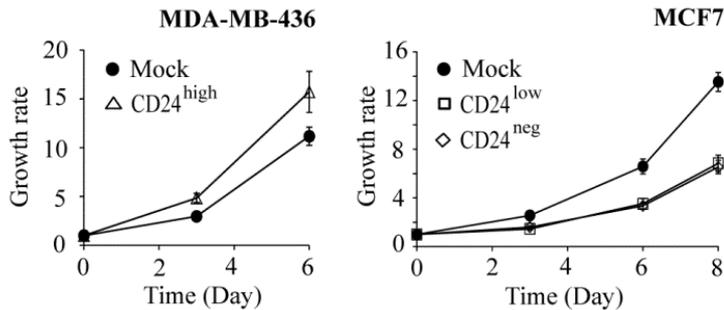
Modulation de l'expression de CD24

Modulation de l'expression de CD24

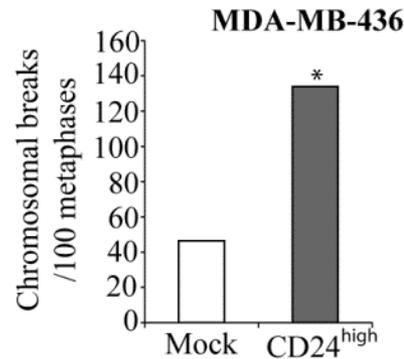


N'induit pas tous les phénotypes associées aux CSC

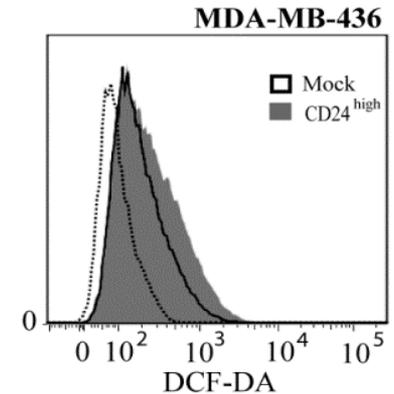
Mais l'absence de CD24 est associée À des propriétés liées à la radiorésistance



Vitesse de prolifération



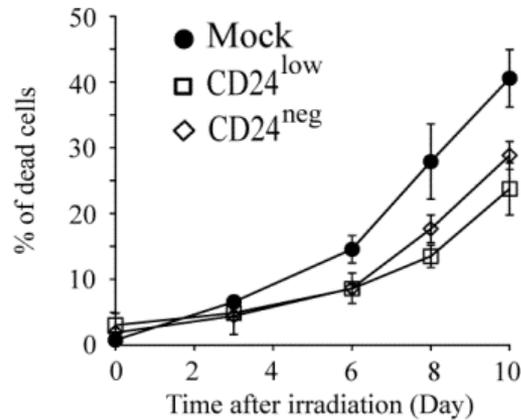
Instabilité génétique



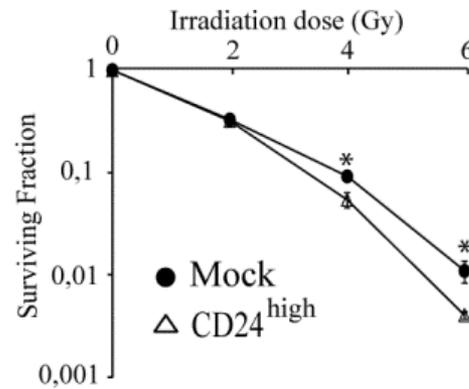
Stress oxydant

CD24 et radiosensibilité

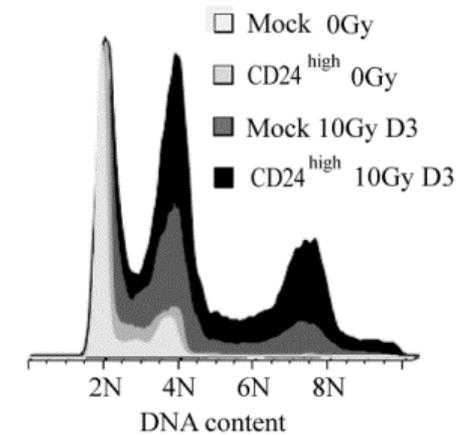
Mortalité



Survie clonogénique

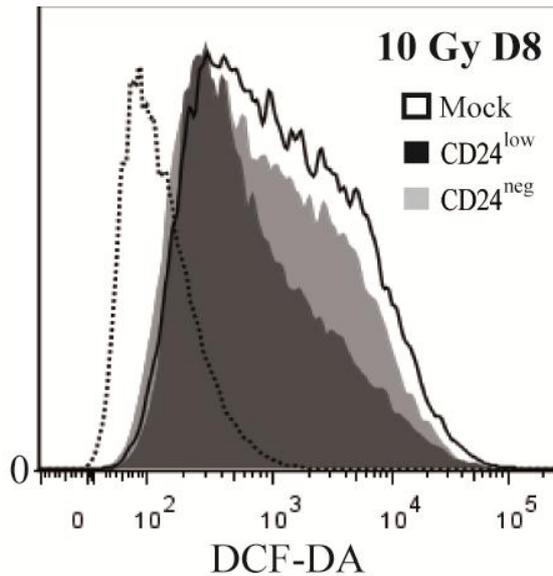


Blocage G2/M et polyploïdie

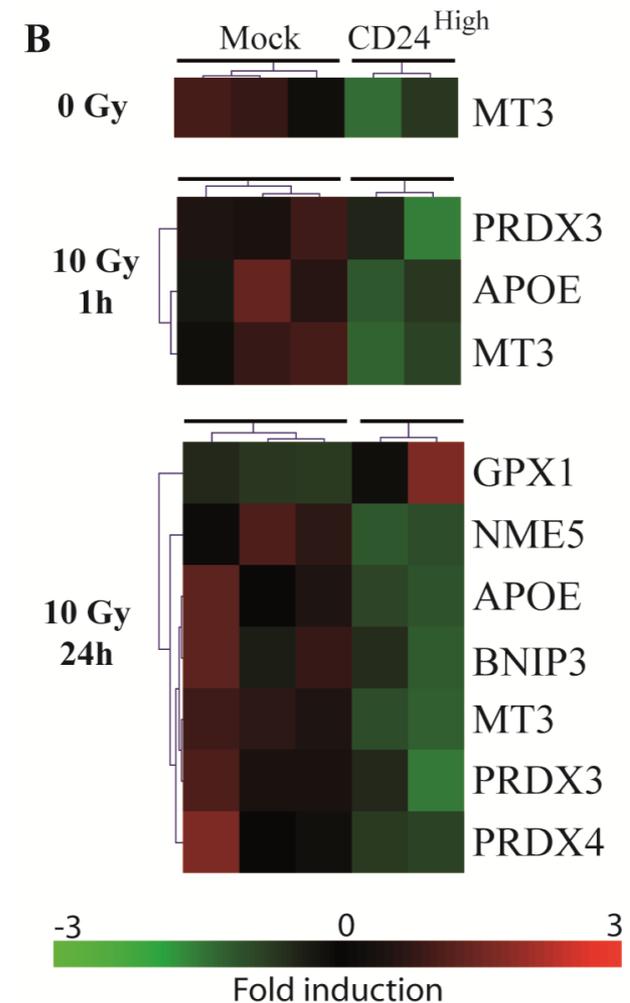


Les cellules CD24⁻ présentent une sensibilité réduite aux radiations et une baisse de l'instabilité génétique radioinduite

CD24 et stress oxydant

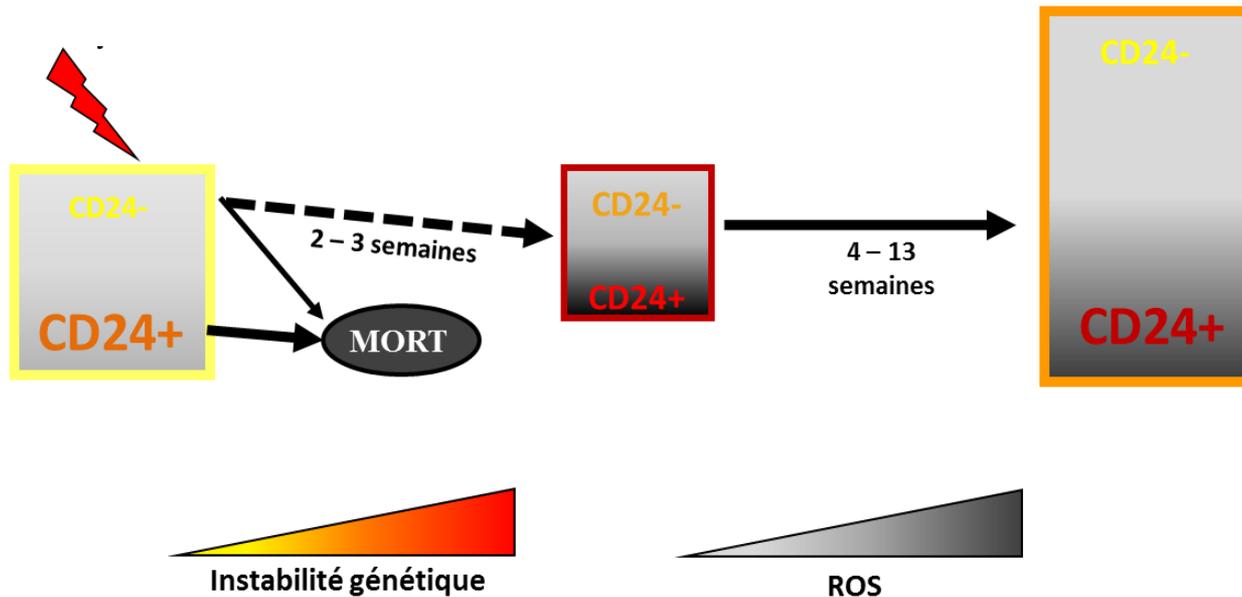


Les cellules CD24⁻ présentent moins de ROS dans les jours qui suivent l'irradiation (concomitants avec la mort radioinduite)



CD24 et radiosensibilité

CD24 n'est pas uniquement un marqueur, mais un acteur de la réponse à l'irradiation.



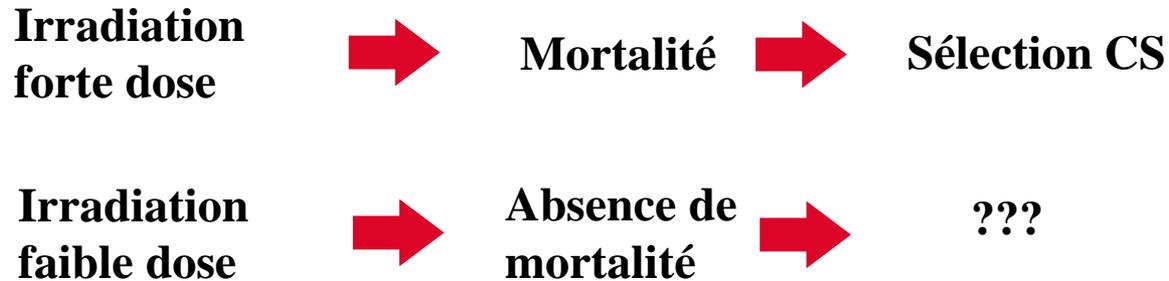
Instabilité génétique :
persistance des ROS en excès
dans la descendance des
cellules irradiées
(mécanismes épigénétiques)

CD24⁻ sélectionnées par
l'irradiation du fait de
leur capacité à supprimer
les ROS radioinduits

Surproduction constitutive
de ROS transmise à la
descendance
CD24⁻ : stable
CD24⁺ : instable

Faibles doses d'irradiation

Les cellules souches jouent elles un rôle dans la réponse aux faibles doses d'irradiation ?



Quelques données de la littérature



Irradiation induirait une transition :

surexpression de facteurs de transcription impliqués dans la génération de cellules souches pluripotentes (IPS) à partir de cellules normales différenciées

Oct4, Sox2, Nanog et Klf4

« reprogrammation »



« dédifférenciation »

Faibles doses d'irradiation

Objectif : établir et caractériser la capacité des faibles doses d'irradiation à moduler la radiosensibilité des cellules via une « reprogrammation » radio-induite des cellules vers un phénotype « souche ».

**Faibles doses
d'irradiation**

Irradiation aigue

(0.02-0.1 Gy à 2Gy/min)

Irradiation chronique

0,1 mGy/min pendant 1 semaine

Infrastructure au CEA :
Irradiation en culture et
en continu



Faibles doses d'irradiation

L'effet des radiations sur la plasticité cellulaire, dans le sens d'une induction d'un caractère « souche », est actuellement étudié à l'aide de 2 séries de marqueurs.

Marqueurs « classiques » des CSCs mammaires (CD24, CD44, CD133, ESA, activité ALDH, Side population, etc...)

Facteurs de transcription dérégulés dans les IPS (cellules souches pluripotentes) (Oct4, Sox2, Nanog et Klf4, etc...)

Parallèlement, études des ROS, la signalisation des dommages et la réparation de l'ADN

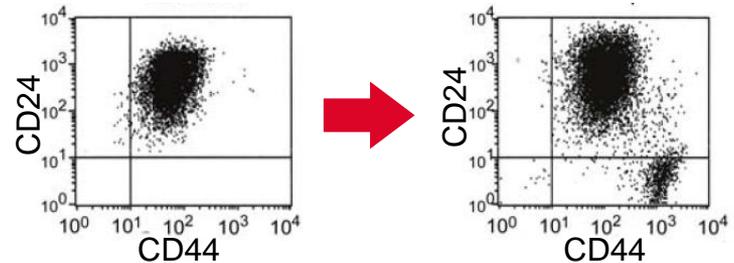
Premiers résultats obtenus :

Pour des irradiations aiguës de 0.02-0.1 Gy
Pour des irradiations chroniques (0,1 mGy/min pendant 1 semaine)

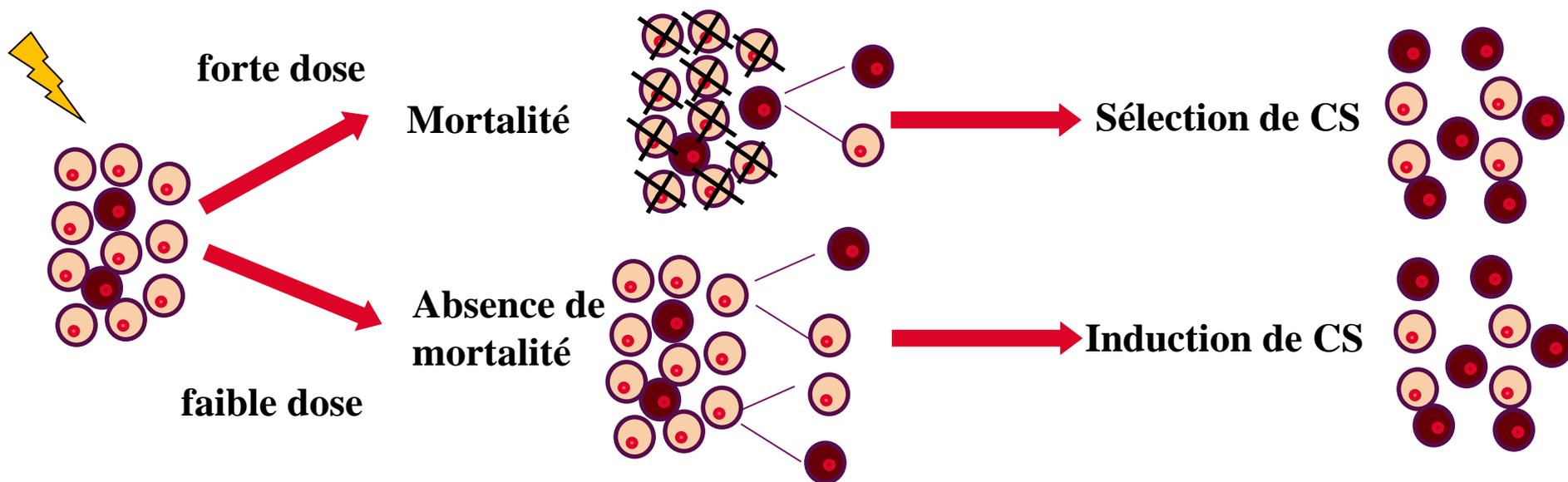
Pas de mortalité radioinduite
Pas de variation de vitesse de prolifération
Dérégulation de l'expression de certains
« marqueurs souches »

Suite de l'étude

- Etendre cette étude à un plus grand nombre de marqueurs
- Suivre les cellules irradiées à moyen terme (1 – 8 semaines)
- Rechercher par FACS, l'émergence d'une sous population de type « souche »
- Etude de l'instabilité chromosomique
- Etude du taux de ROS
- Etude des mécanismes de réparation / voies de signalisation



Conclusions



**Cet effet d'induction / reprogrammation n'est pas visible aux fortes doses car « cacher » par la mort radioinduite
Mais joue un rôle important quand on descend la dose et que la viabilité n'est pas altéré**



**Au sein d'un même tissu : hétérogénéité cellulaire dans la réponse à l'irradiation
Cette hétérogénéité peut être modulé par l'irradiation**

Laboratoire de Cancérologie Expérimentale

Direction : Sylvie Chevillard

Travail réalisé par :

Julie Bensimon

Julie Konge

Maud Goislard

Sandrine Altmeyer-Morel

Financements

EDF

Effets des faibles doses (aigues ou chroniques) sur la stabilité de la radiosensibilité cellulaire : liens fonctionnels avec la cancérogenèse

ANR

Projet NanoCTC