

DE LA RECHERCHE À L'INDUSTRIE

cea

# LES FAIBLES DOSES D'IRRADIATION FAVORISENT LE STRESS OXYDANT ET DIMINUENT L'AUTO-RENOUVELLEMENT DES CELLULES SOUCHES HEMATOPOIÉTIQUES

Nathalie GAULT

Laboratoire réparation et transcription dans les cellules souches  
Hématopoïétiques

CEA/DRF/Institut Jacob/IRCM Fontenay aux Roses



**Inserm**

Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

université  
**PARIS**  
PARIS 7  
**DIDEROT**

UNIVERSITÉ  
**PARIS**  
SUD

SFRP, 26 Septembre 2017

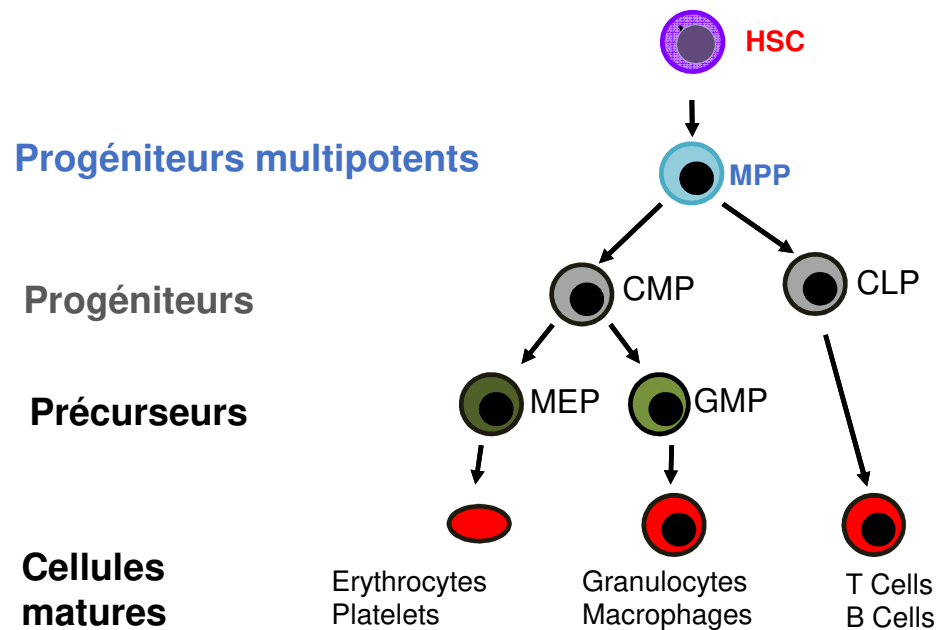
L'exposition aux faibles doses concernent un large nombre d'individus :

- Expositions environnementales
- Expositions des travailleurs du nucléaire et des professionnels de santé
- Examens d'imageries médicales

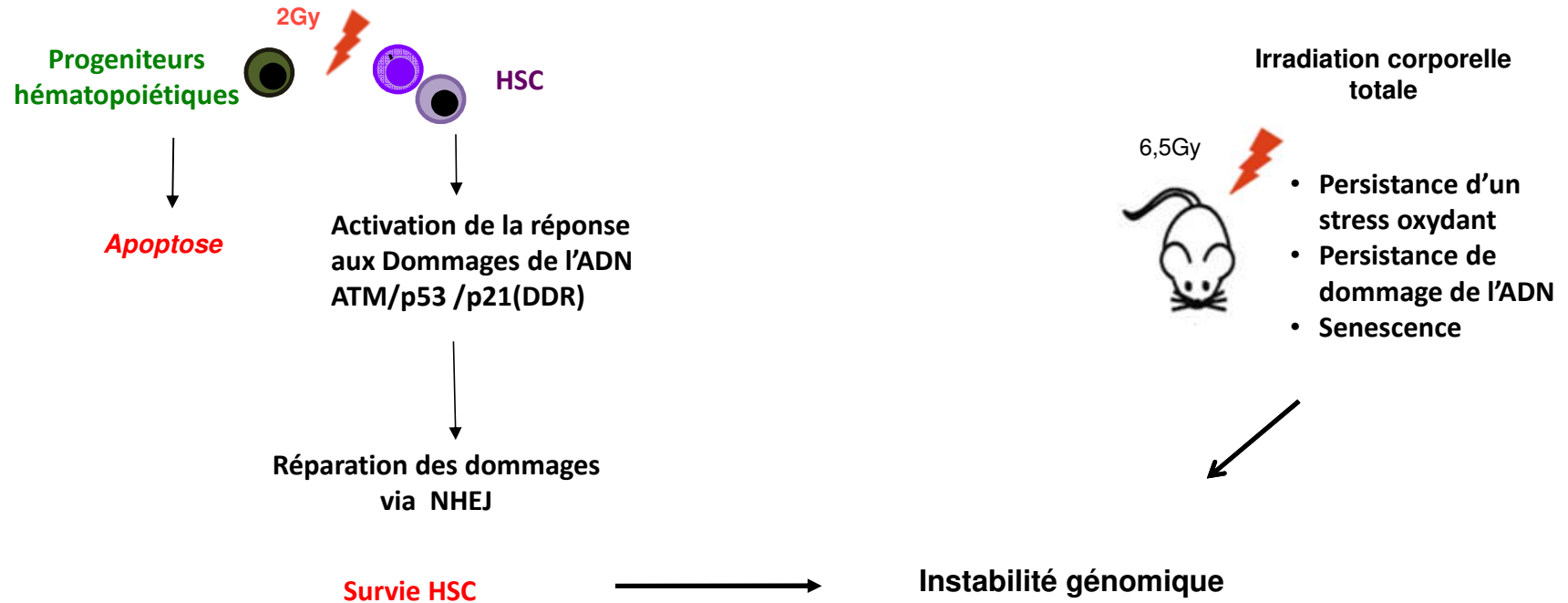
Impact sur la santé des individus fait encore débat bien que des études épidémiologiques montrent qu'une exposition aux faibles doses augmente le risque de développer certains types de leucémie

## Pourquoi étudier les effets des faibles doses de rayonnements $\gamma$ sur les cellules souches Hématopoïétiques adultes ?

- Le tissu hématopoïétique est un des tissus les plus radiosensibles
- Cellules souches hématopoïétiques (CSH) à l'origine de toutes les cellules sanguines et de l'immunité. Si leur intégrité et / ou leur fonction sont modifiées, elles peuvent mener à des hémopathies malignes (leucémies)



# Cellules souches Hématopoïétiques (CSH) et effets des rayonnements ionisants $\gamma$



- HSC plus radioresistantes que les précurseurs/progéniteurs (Mejine, 1991; Down, 1998)
- *Activation DDR*
- *Instabilité génomique dans la progénie : persistance d'un stress oxydant dans les HSC* (Wang, 2006; Pazhanisamy, 2011, Mohrin 2010)

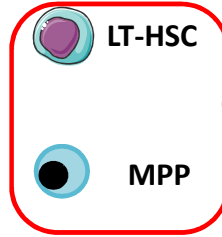
**Quelle est la réponse des CSH aux faibles doses d'irradiation?**

# Les faibles doses favorisent une hyper radiosensibilité (HRS)



Moelle osseuse

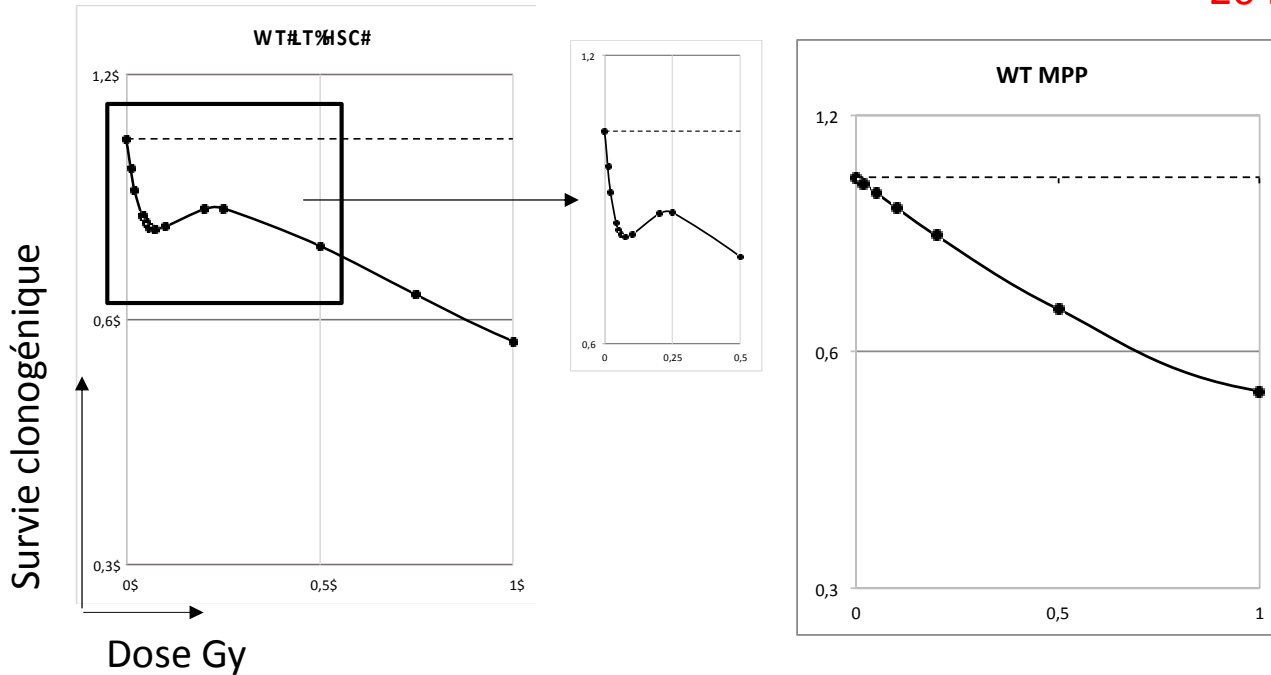
tri  
cellulaire



Irradiation *ex vivo*  
avec des doses  
croissantes de  
Rayonnements  $\gamma$   
20 mGy à 2 Gy



Courbe de survie  
clonogénique



La survie clonogénique des HSC est diminuée aux faibles doses comparée aux progéniteurs

# La réponse aux dommages de l'ADN (DDR) n'est pas impliquée dans l'HRS observées dans les HSC

voie DDR

Dommage ADN  
( $\gamma$ -H2AX)



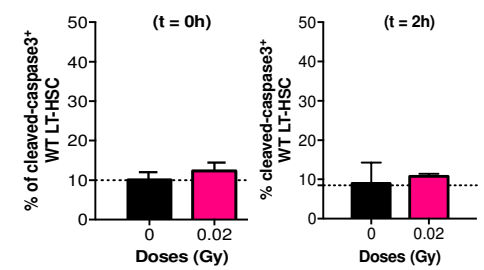
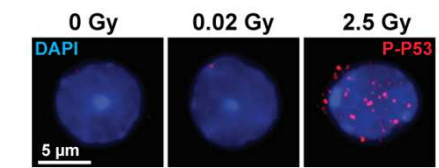
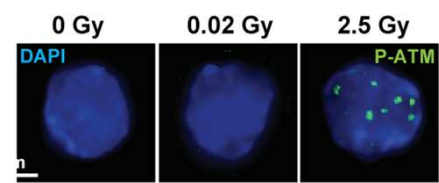
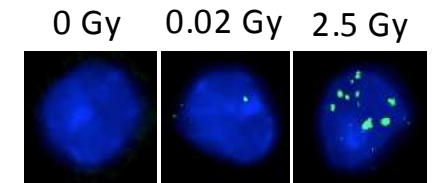
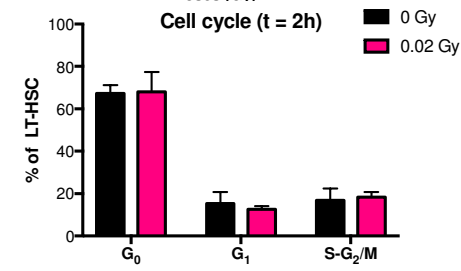
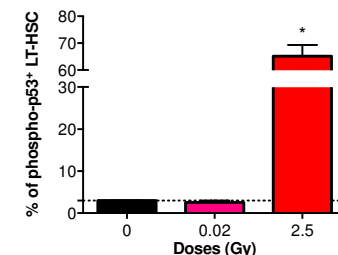
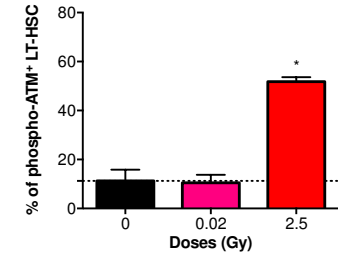
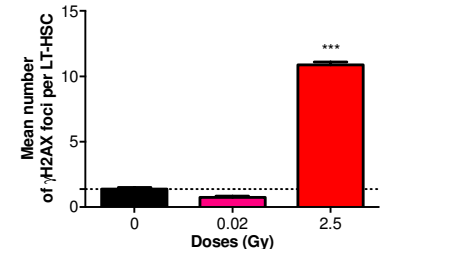
TRANSDUCTION  
Phospho-ATM



EFFECTEUR  
Phospho-P53



Réponses cellulaires  
Arrêt dans le cycle cellulaire  
Réparation / Apoptosis



# La voie de réparation des cassures double brin de l'ADN (NHEJ) n'est pas impliquée dans l'HRS



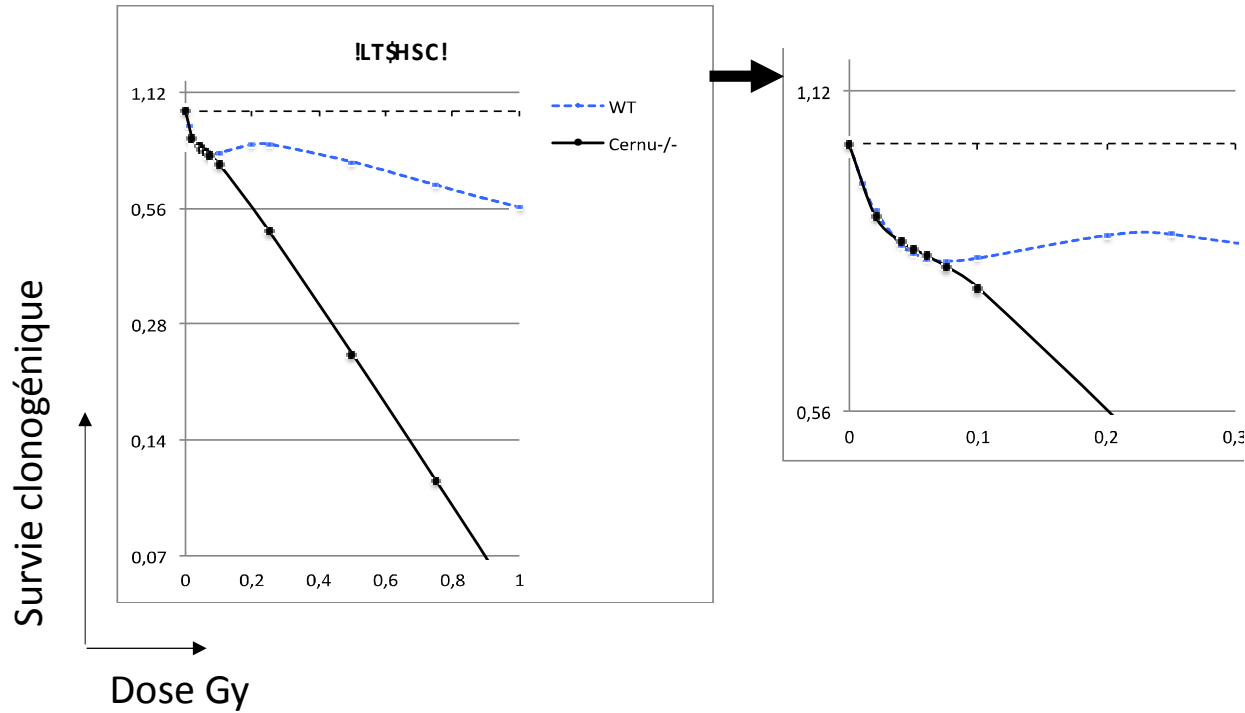
LT-HSC Cernu<sup>-/-</sup>



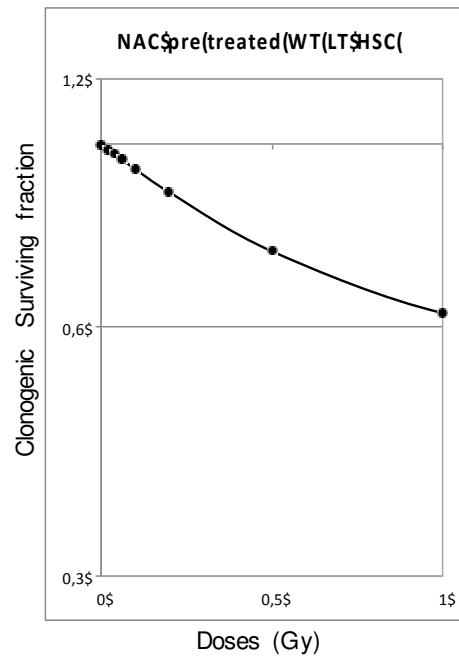
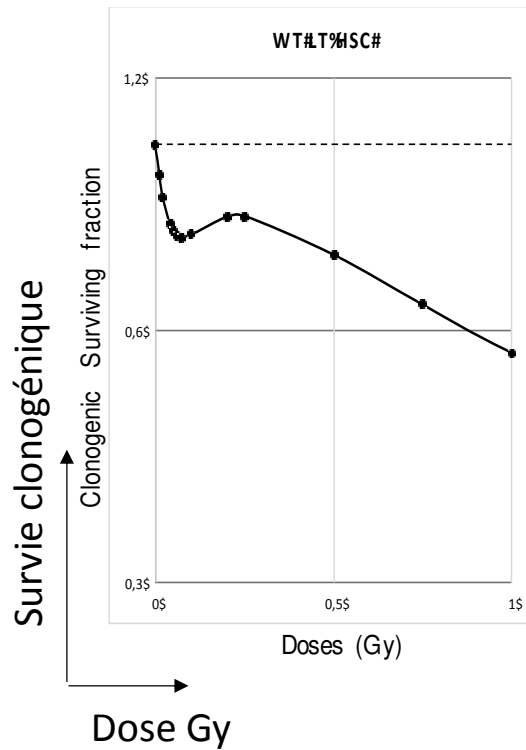
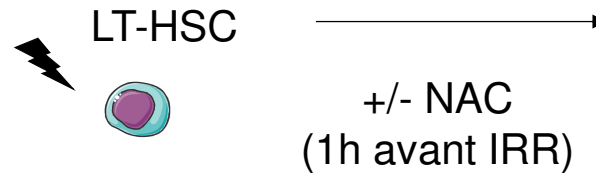
LT-HSC WT

Courbe de survie clonogénique

NHEJ voie de réparation opérant sur cellules Quiescentes  
HSC cernunos <sup>-/-</sup> déficientes NHEJ



# L'HRS est directement imputable au stress oxydant

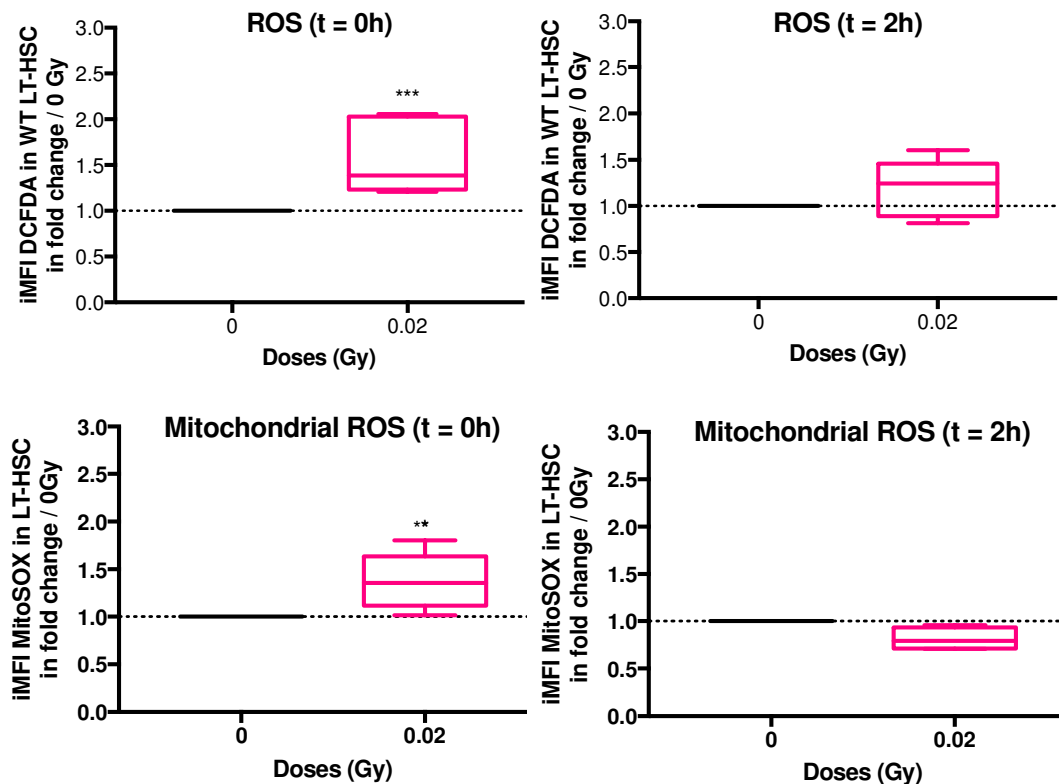


NAC : N-acetylcysteine, antioxydant

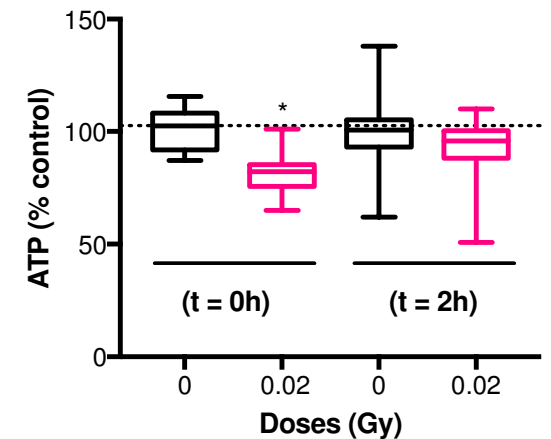


# Les faibles doses favorisent dans les HSC un stress oxydatif et un stress énergétique transitoires

## Mesure des espèces réactives de l'oxygène dans HSC



## Mesure de l'ATP dans HSC



Immédiatement après IR

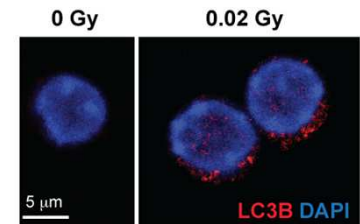
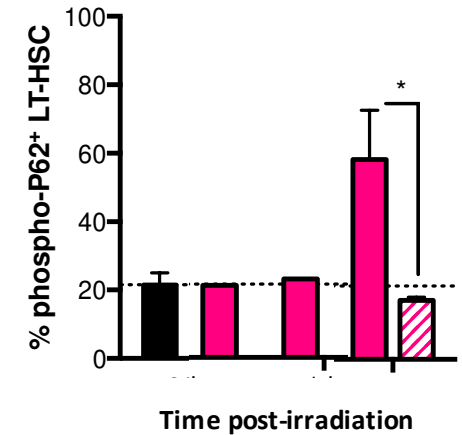
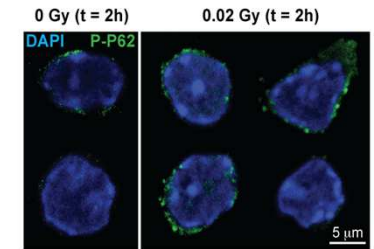
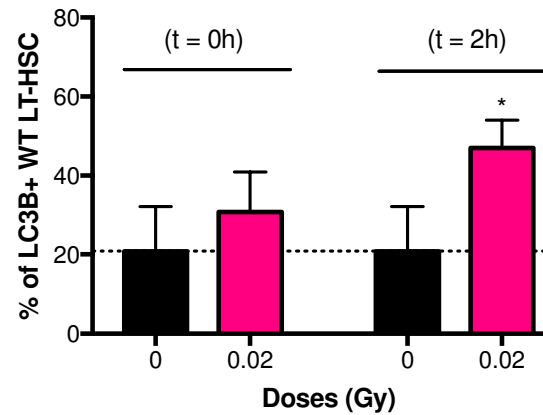
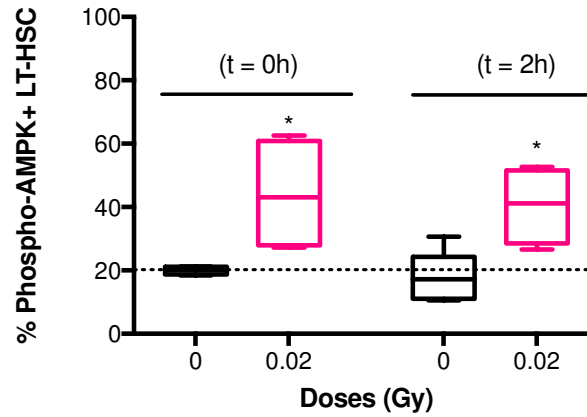
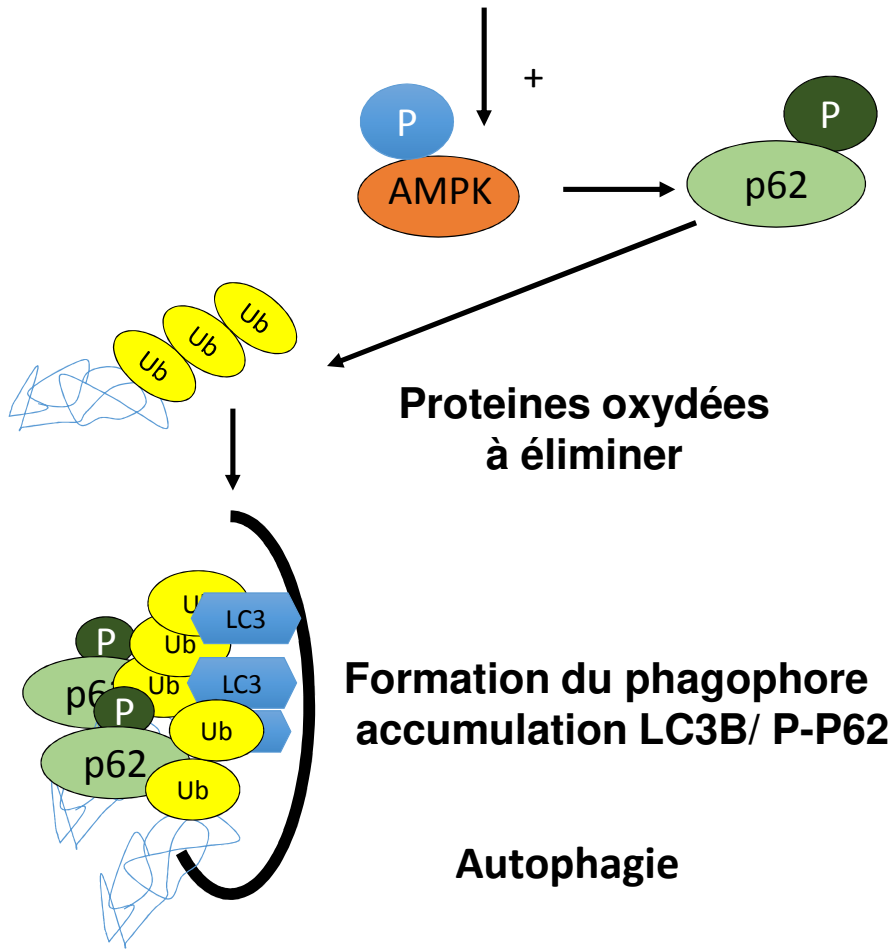
✓ Augmentation ROS diminution ATP

2h après IR

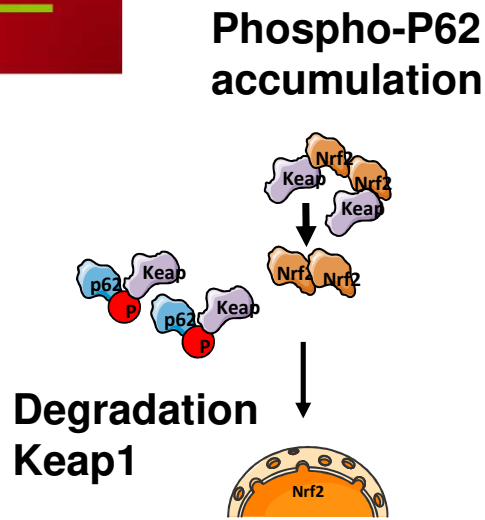
✓ Retour au niveau basal ROS et ATP

# Les Stress oxydant et énergétique activent dans les HSC la voie moléculaire AMPK/p62 régulant l'autophagie

Stress oxydant / énergétique

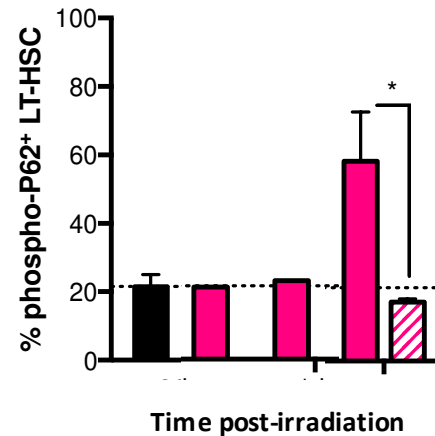
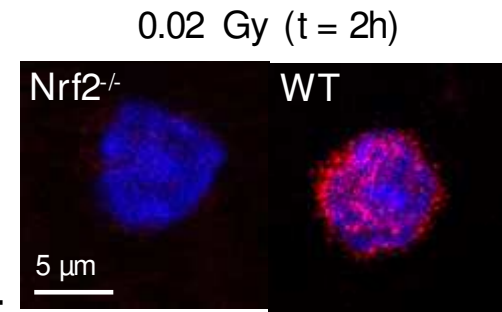
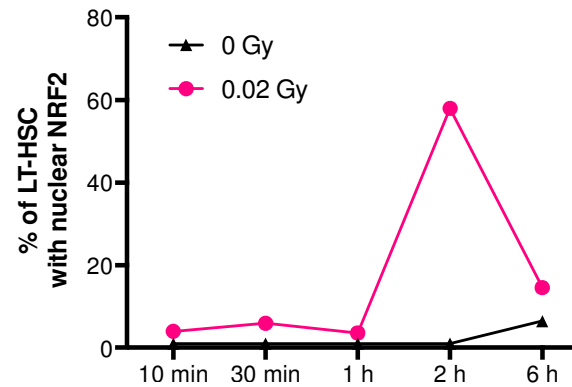


# Le stress oxydant active la voie Keap1/Nrf2 impliquée dans la protection des cellules



## libération et translocation Nrf2

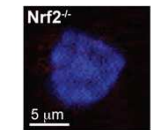
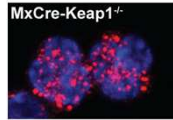
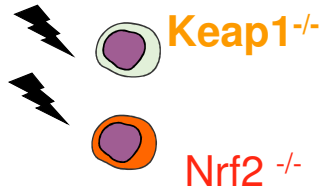
- Activation transcription gènes antioxydant
- Activation transcription gènes métabolisme



**L'accumulation transitoire de Nrf2 dans le noyau a lieu quand P-P62 s'accumule dans les HSC**

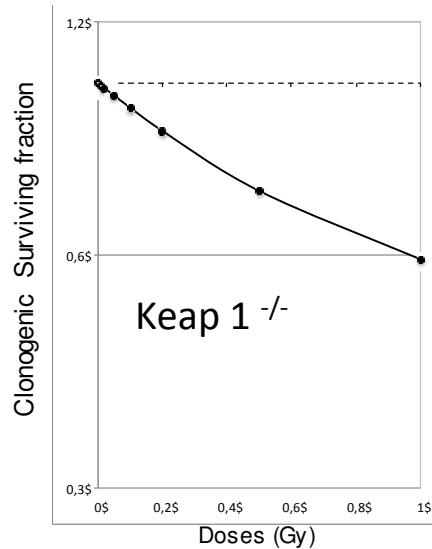
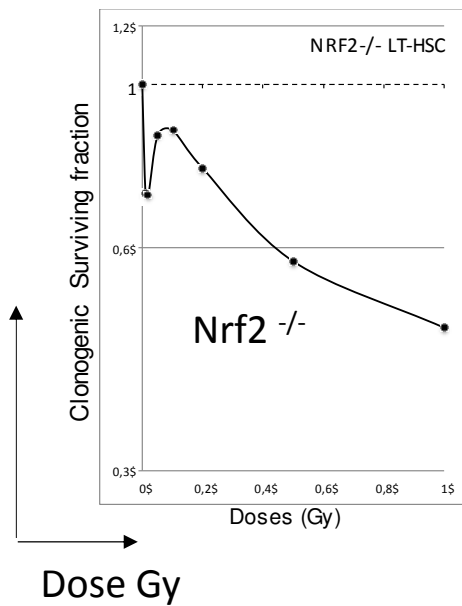


# La voie keap1/Nrf2 régule l'HyperRadioSensibilité dans les HSC en empêchant l'apoptose

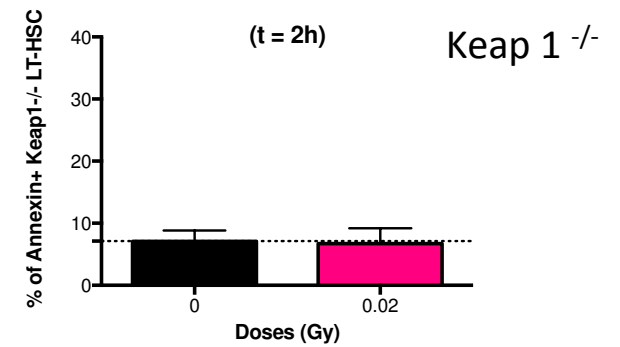
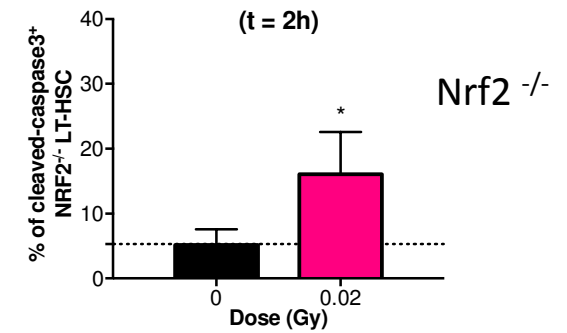


→ Courbe de survie clonogénique  
apoptose

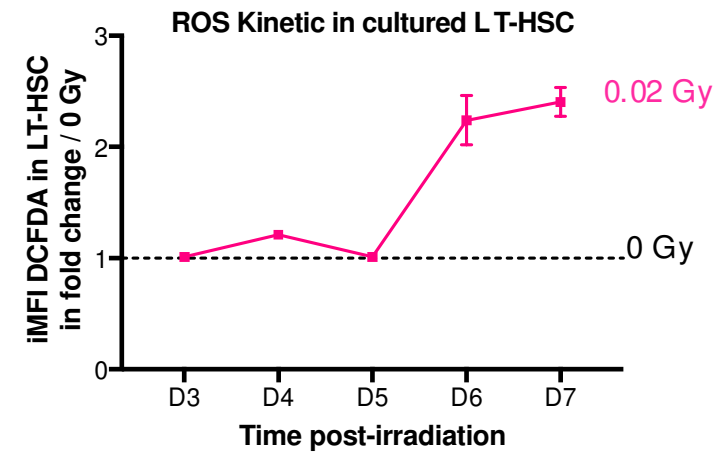
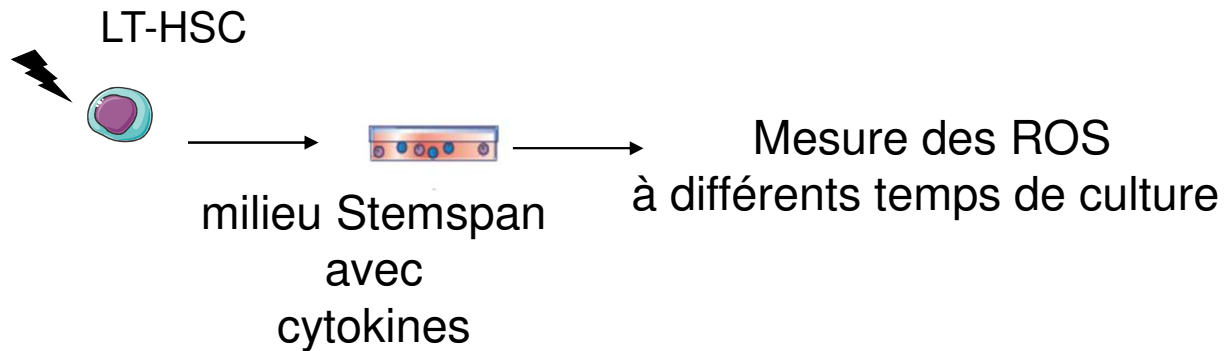
Survie clonogénique



Apoptose

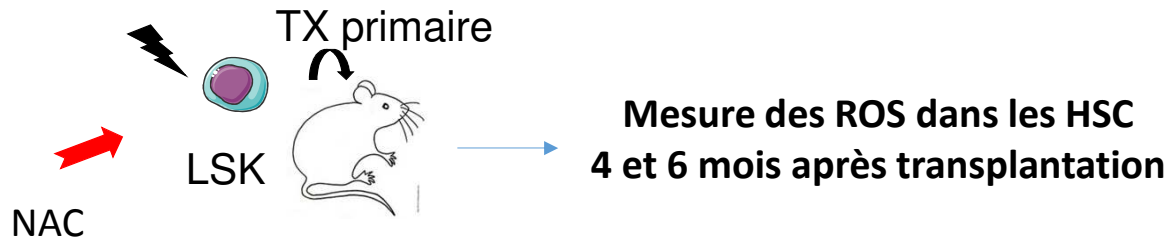


## Les faibles doses induisent un stress oxydant récurrent dans les HSC

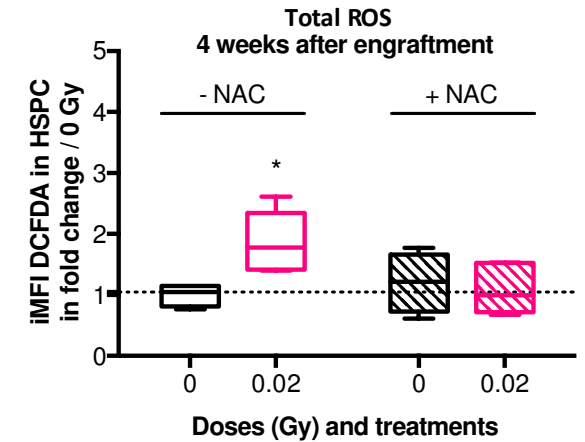


**Le stress oxydant réapparaît à jour 6 de culture**

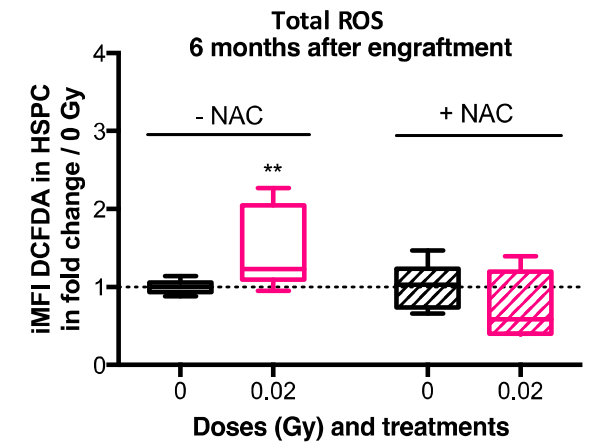
# Le stress oxydant est persistant à long terme dans les HSC



4 mois



6 mois

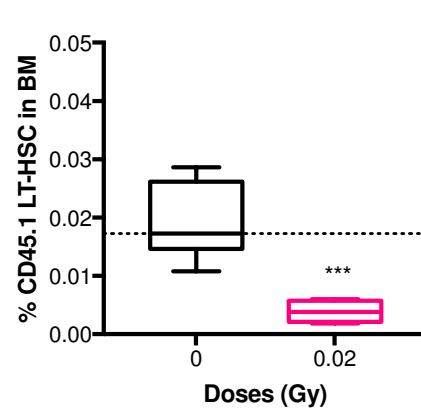
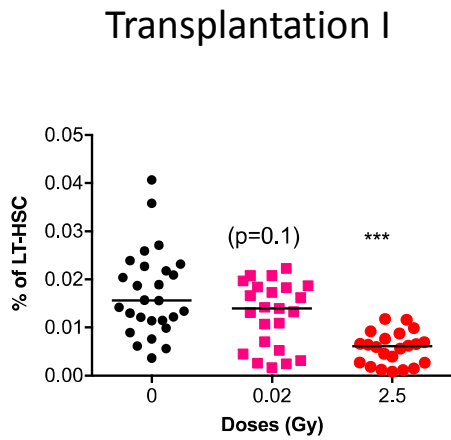
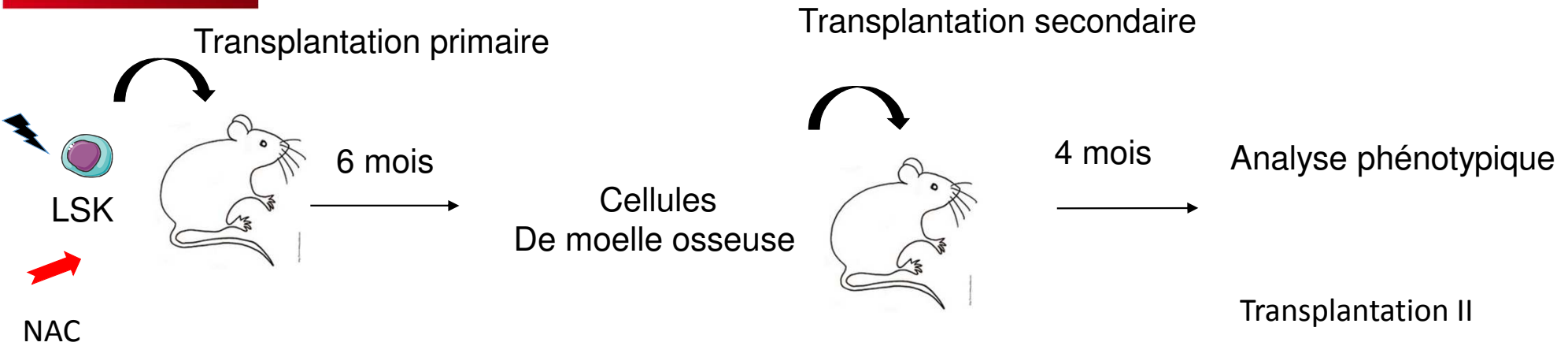


**Le traitement NAC avant irradiation et transplantation abolit le stress oxydant observé à long terme**

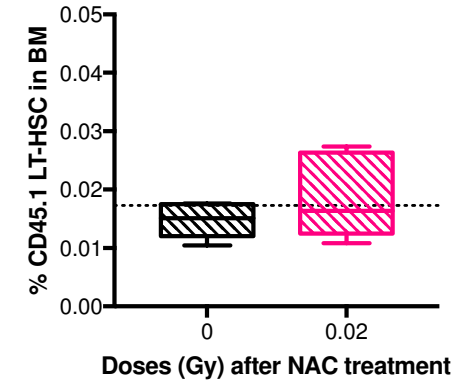


# Le stress oxydant persistant mène à long terme à une perte de fonctionnalité des CSH

✓ Défaut d'autorenouvellement

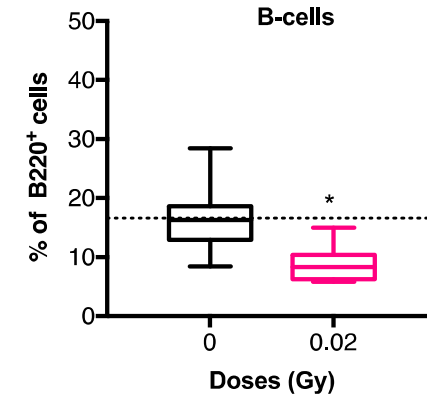
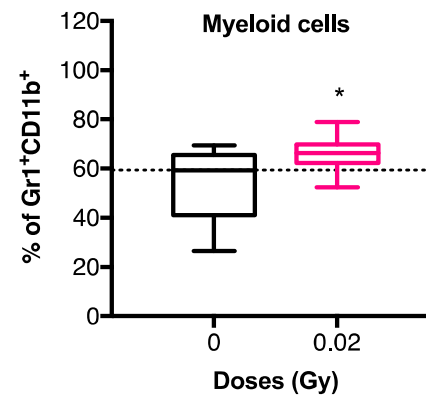
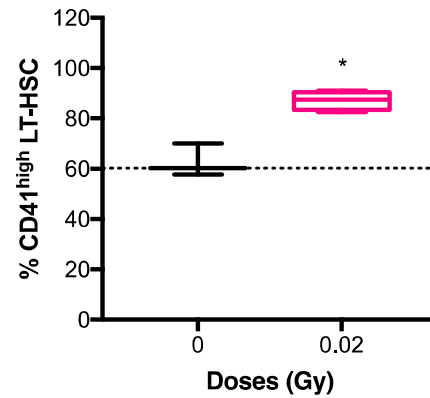


Épuisement des LT-HSC

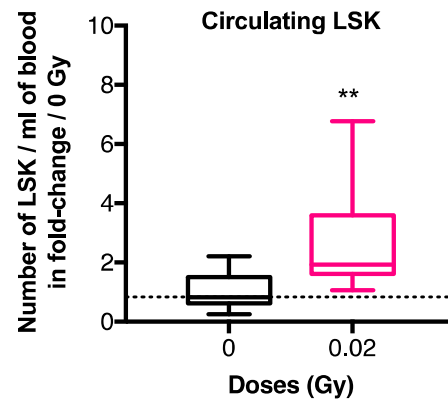


Récupération du phénotype  
Par le NAC

✓ Défaut de différenciation

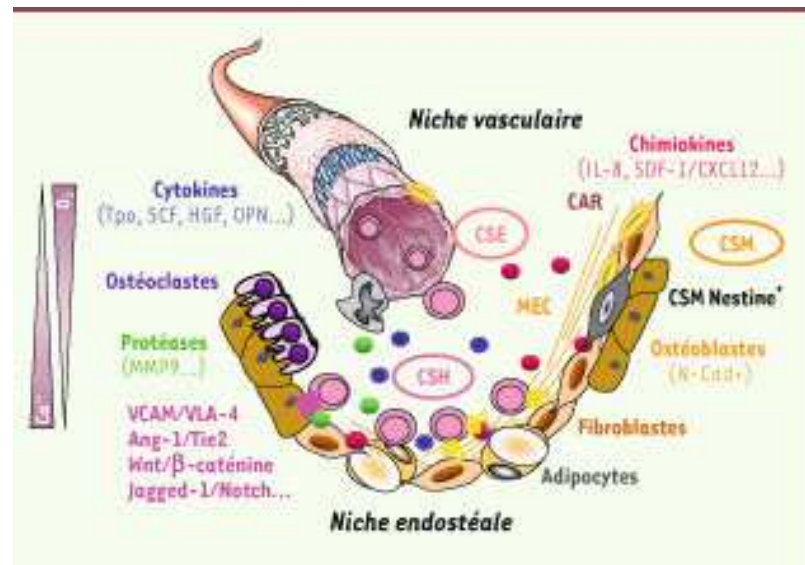


✓ Défaut de nichage dans leur microenvironnement médullaire





## Le microenvironnement médullaire



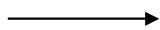
Représentation schématique des niches hématopoïétiques médullaires

Fonction des HSC est régulée :

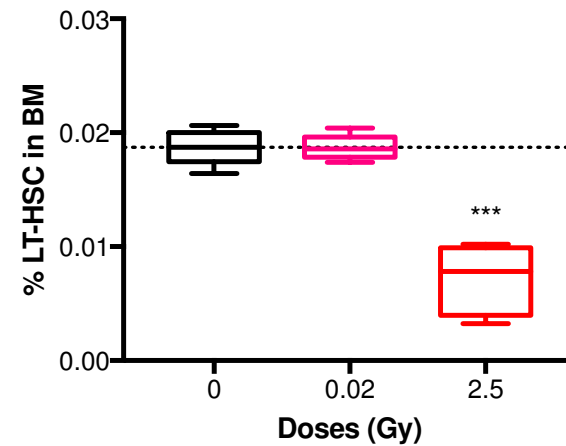
- ✓ via des contacts directs avec différentes cellules du microenvironnement
- ✓ Via des facteurs diffusibles environnementaux

# Le microenvironnement médullaire protège les cellules souches des effets délétères des faibles doses de rayonnements $\gamma$

Irradiation Corporelle totale



Analyse phénotypique



## L'altération du microenvironnement médullaire augmente la radiosensibilité des CSH

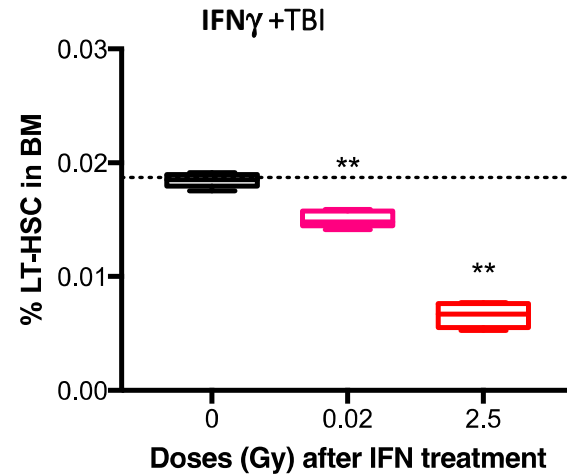
IFN $\gamma$

TBI

24h

4 mois

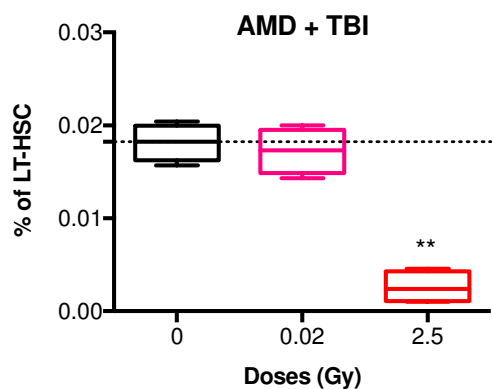
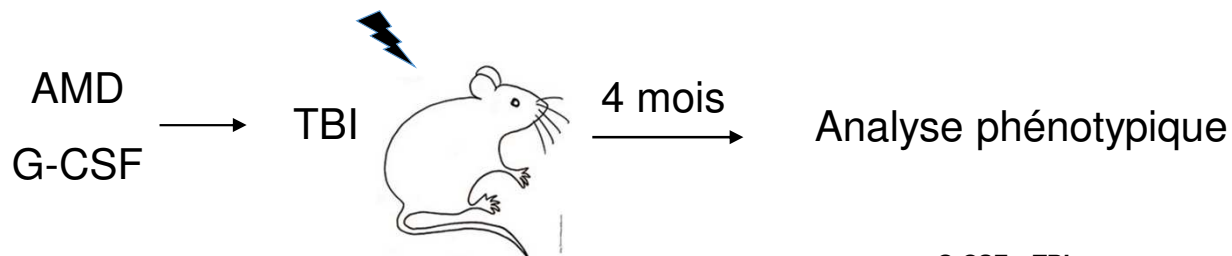
Analyse  
Phénotypique



IFN $\gamma$  : entrée des CSH dans le cycle cellulaire

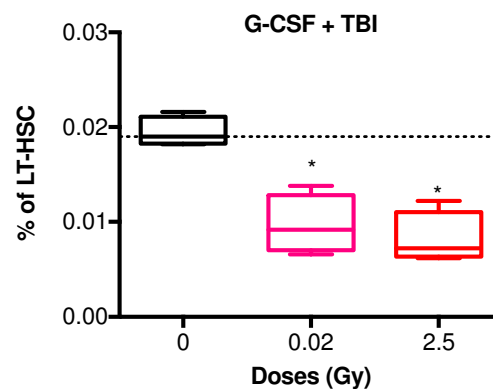
L'irradiation corporelle totale à faible dose en situation inflammatoire entraîne une diminution du pourcentage des CSH

## L'altération du microenvironnement médullaire augmente la radiosensibilité des CSH



AMD3100 : mobilisation CSH dans la circulation sanguine

- CSH reste quiescente



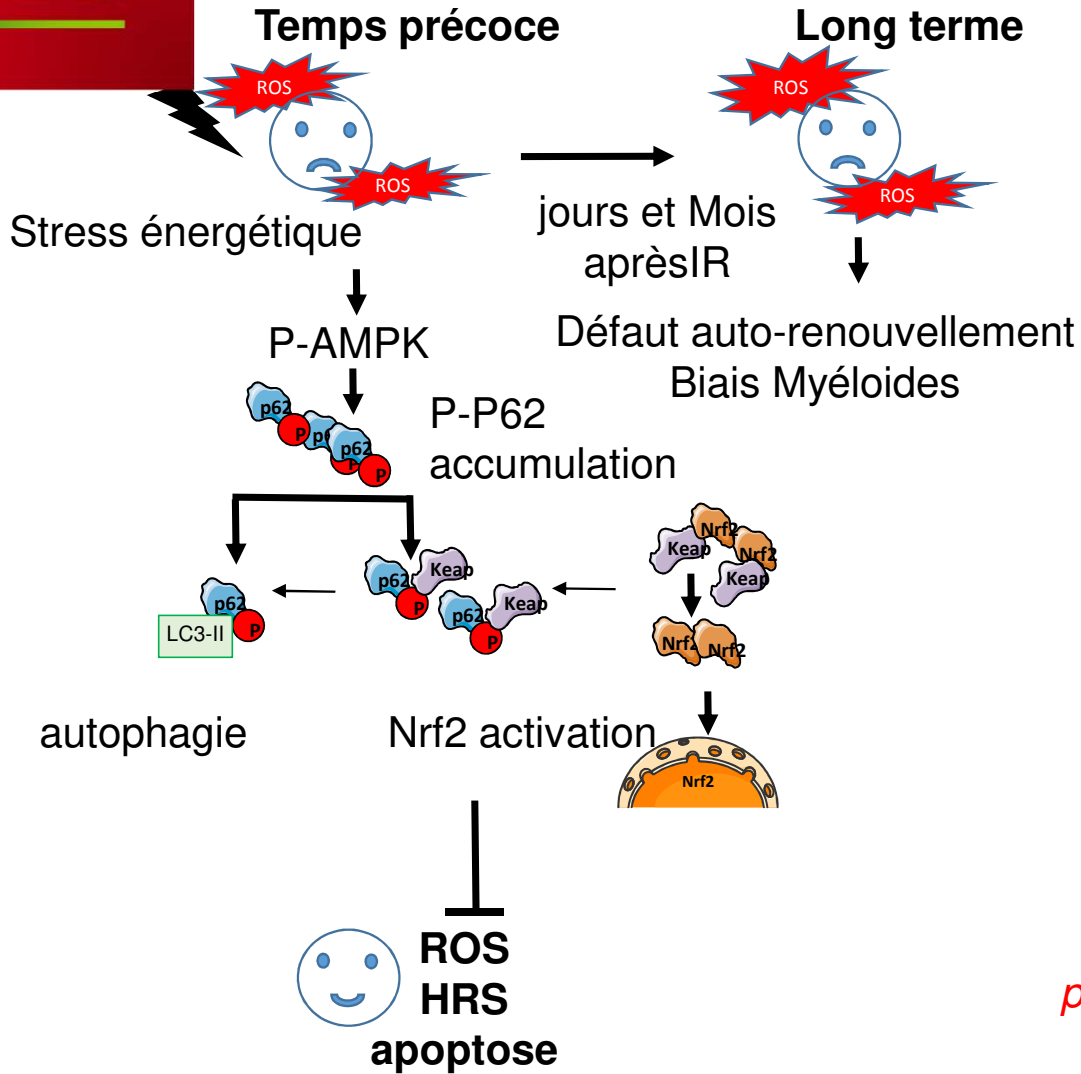
G-CSF : mobilisation des CSH dans la circulation sanguine

- CSH rentre dans le cycle cellulaire
- Agit sur les cellules du microenvironnement

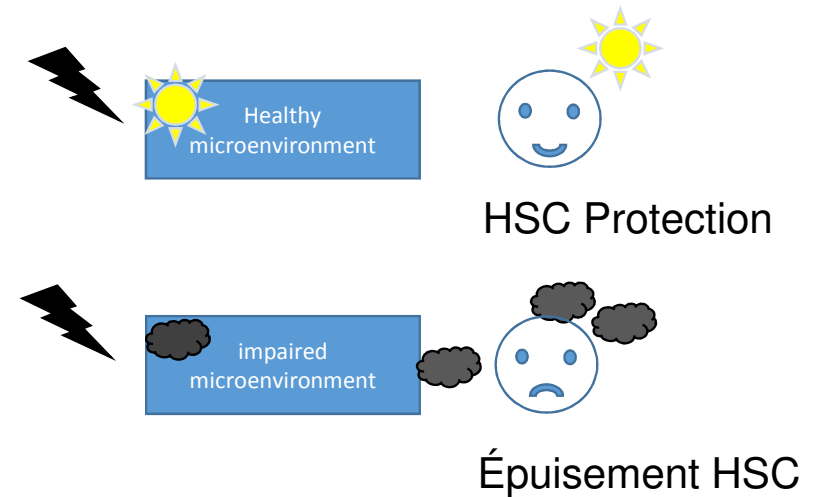
**Le microenvironnement médullaire altéré ne permet plus de protéger les CSH des effets des faibles doses**

# Conclusions

irradiation *Ex vivo* at 0.02Gy



Irradiation corporelle totale 0.02Gy



publication *Cell Reports*

# Thanks to

## **LRTS Team**

Paul-Henri Romeo

Rodrigues-Moreira sarah

Moreno Stephanie

Françoise Hoffschir

Daniel Lewandowski

Federica Ferri

Marion Chalot

Giulia Ghinatti

Anne-Sophie Gallouët

Denise Gay

Vanessa Petit

Germain Rousselet

Claire Torres

## **Microscopy Platform**

Lamia Irbah

## **Irradiation Platform**

Jean-Baptiste Lahaye

Jacqueline Bernardino-Sgherri

## **Tohoku University Graduate School of Medicine**

Masayuki Yamamoto

Hozumi Motohashi

## **Wayne State University - Detroit Department of Oncology**

Michael C. Joiner

## **Genom' IC- Genomic Platform Institut Cochin**

Franck Letourneur

Sébastien Jacques

Romain Pelletier

Florent Dumont

## **Sorting Facility**

Jan Baijer

Nathalie Dechamps

## **Animal Facility**

Veronique Neuville

Julien Tilliet

Vilma Barroca