

RESUME

Mise en place d'un modèle d'étude microfluidique de l'implication de la kinase NDR2 dans la dissémination vasculaire des cellules tumorales bronchiques humaines

Dimitri LEITE FERREIRA

Sous la direction de : Pr LEVALLET Guénaëlle et le Pr BERGOT Emmanuel

ISTCT - UMR 6030 – UNICAEN — CNRS – GIP CYCERON – CAEN

Directeur : Myriam Bernaudin

Introduction

Le Cancer Bronchique Non à Petites Cellules (CBNPC) est le plus mortel et le cerveau est l'un des sites préférentiels métastatique. La voie de signalisation Hippo est dérégulée dans les CBNPC précocement via hyperméthylation du promoteur du gène RASSF1 ou plus tardivement par hypoxie due à la croissance tumorale. La kinase de la voie Hippo, NDR2 jouerait un rôle dans la dissémination des cellules tumorales bronchiques du CBNPC notamment au niveau cérébral.

Hypothèse et objectifs

L'hypothèse principale est que la kinase NDR2 est impliquée dans les différentes étapes de dissémination bronchique du CBNPC et serait responsable de la résistance des Cellules Tumorales Circulantes (CTCs) au flux artériel expliquant la formation de métastases cérébrales. Les objectifs sont de mettre au point un modèle de microfluidique afin de reproduire la mise en circulation des CTCs, d'évaluer le comportement des CTCs exprimant ou non NDR2 en flux et dans les étapes d'invasion mais aussi de mettre au point un modèle de barrière endothéliale vasculaire afin d'observer les interactions des CTCs avec l'endothélium.

Matériels – Méthodes

Le modèle microfluidique repose sur le système de pompe Ibidi® et le modèle de barrière est reproduit sur des microlames. Les HBEC-5i sont utilisés pour la mise au point du modèle endothélial en flux. Les lignées tumorales A549 et H2030-BrM3 transfectées shContrôle et shNDR2 ont été utilisées comme modèle de cellules tumorales circulantes. La confluence et la prolifération au BrdU est mesurée sur un lecteur de microplaque Spark®. L'expression des ARN est évalué par RT-qPCR. La mort cellulaire et l'expression protéique est mesurée par immunocytochimie de fluorescence au microscope confocal.

Résultats

Le modèle de barrière endothélial (HBEC-5i) en flux a pu être mise en place avec un revêtement de gélatine et de poly-L-lysine. L'exposition aux contraintes de cisaillement des cellules est responsable d'une augmentation de la mortalité cellulaire, diminution de la prolifération et de la confluence. L'expression géniques des marqueurs souches (SOX2, CD44v6), de NDR2 et des gènes cibles de YAP est affectée par la mise en flux et/ou l'absence d'expression de NDR2.

Conclusion

Cette étude renforce l'hypothèse que la kinase NDR2 joue un rôle essentiel dans la dissémination métastatique des CBNPC. La nature et le type d'interactions entre CTCs et endothélium reste à évaluer. Ainsi NDR2 pourrait devenir une cible thérapeutique intéressante pour prévenir la formation de métastases cérébrales.

Mots-clefs : Cancer bronchique non à petites cellules – NDR2 – YAP - Voie Hippo - Microfluidique