



Unité ISTCT

Equipe CERVOxy

« Hypoxie, physiopathologies cérébrovasculaire et tumorale »

Caen, le 21 Aout 2019

**Rapport** du Projet « Les kinases NDR, nouvelles cibles thérapeutiques chez les patients atteints de cancers pulmonaires présentant une perte d'expression de RASSF1A. » mené par Mme Guénaëlle Levallet avec le soutien de l'AIR.

### Objet du soutien financier sollicité auprès de l'AIR :

Le soutien financier sollicité auprès de l'AIR en 2016 avait pour objectif de financer les expérimentations d'un projet scientifique dont l'objectif principal était de démontrer que les kinases NDR rendent compte du phénotype métastatique des CBNPC porteur d'une inactivation du gène RASSF1 *in vivo*.

### Contexte scientifique :

Le gène *RASSF1A* est un gène suppresseur de tumeur dont la fonction est fréquemment perdue dans les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC), cette anomalie moléculaire concerne en effet, environ 25% des patients atteints de CBNPC. L'absence de RASSF1A engendre un phénotype « pro-métastatique » rendant compte de l'agressivité de ces tumeurs (les patients porteurs d'une perte d'expression de RASSF1A ont une médiane de survie globale et sans progression divisée par un facteur 3 comparée aux autres patients).

Des travaux préliminaires de notre groupe de recherche avaient démontré que l'inhibition des kinases NDR1 et NDR2, inhibe, *in vitro*, les effets induits par la perte d'expression de RASSF1A (diminution de la motilité et de l'invasion cellulaire). Pour parfaire ce constat, nous souhaitions démontrer cette fois, *in vivo*, que les kinases NDR rendent compte du phénotype métastatique des CBNPC porteur d'une inactivation du gène RASSF1 en inactivant stablement les kinases NDR1 et 2 par shARN dans des cellules de lignées de CBNPC puis en implantant ces cellules chez la souris immunodéprimée SCID beige.

### Résultats Principaux :

Les kinases NDR1 et NDR2 ont été stablement inhibées par particules lentivirales shARN dans les cellules des lignées de carcinome bronchique A549 et H1299, n'exprimant plus RASSF1A. La migration cellulaire a été évaluée par test de comblement de blessure, l'invasion cellulaire a été réalisée en chambre de Boyden. L'expression des ARNm a été évaluée par RT-PCR et l'expression protéique par western Blot. Les évaluations de la formation de xénogreffe et de métastases ont été effectuées sur des souris SCID Beige après implantation des cellules A549 et H1299 exprimant ou non les kinases NDR en sous cutané (autorisation de projet utilisant des



animaux à des fins scientifiques (Référence du dossier : 2018030814474695 (# 13256)) en respectant les règles éthiques en vigueur d'expérimentation animale.

Nous avons démontré que l'inhibition de la kinase NDR2 (et non de NDR1) diminuait la migration, l'invasion cellulaire et la formation/croissance de xénogreffes *in vivo* chez la souris SCID beige par des cellules A549 et H1299, sans modifier leur prolifération ni leur apoptose basale. *In vivo*, le potentiel métastatique des cellules A549 ou H1299 s'est avéré également moins important lorsque l'expression de la kinase NDR2 est inhibée. Mécanistiquement, la diminution du potentiel migratoire et métastatique des cellules n'exprimant ni RASSF1A ni NDR2 apparaissait liée à une diminution de l'intensité nucléaire de YAP, et donc potentiellement de son activité, ainsi qu'une atténuation du phénotype mésenchymateux de ces cellules.

*In fine*, ce travail a permis de démontrer que la kinase NDR2 rend compte du potentiel migratoire et métastatique des cellules de CBNPC présentant une inactivation de RASSF1A *in vivo*. Notre travail a ainsi identifié NDR2 comme cible « druggable » chez les patients atteints de Cancer bronchique non à petites cellules et présentant une inactivation de RASSF1A (25% des cas).

### **Retombées :**

Grâce au soutien de l'AIR, nous avons pu finaliser une étude qui a été présentée dans différents congrès nationaux et publiée dans la revue Journal of Experimental & Clinical Cancer Research (Impact Factor 6.2) (NDR2 kinase contributes to cell invasion and cytokinesis defects induced by the inactivation of RASSF1A tumor-suppressor gene in lung cancer cells. Keller M, Dubois F, Teulier S, Martin APJ, Levallet J, Maille E, Brosseau S, Elie N, Hergovich A, Bergot E, Camonis J, Zalcman G, Levallet G. J Exp Clin Cancer Res. 2019 Apr 12;38(1):158.).

Ce travail est le socle de nos projets actuels qui consistent dorénavant à identifier un potentiel inhibiteur pharmacologique de la kinase NDR2. Pour se faire, nous avons initié une collaboration avec le CERMN (Centre d'étude et de recherche du médicament de Normandie, Pr Dallemagne), qui à partir des données bibliographiques relatives à la structure des kinases, a pu identifier dans sa chimiothèque, une 20aine de molécules possiblement inhibitrice des NDR. Nous testons ces molécules afin de déterminer si elles sont en effet capable d'inhiber la kinase NDR2.

---

Unité ISTCT - UMR 6030, CNRS, CEA, Université de Caen Normandie

GIP CYCERON, boulevard Henri Becquerel, BP5229, 14074 Caen cedex ☎+33 (0)2 31 47 02 30 📠+33 (0)2 31 47 02 22

🌐 [www.istct.cyceron.fr](http://www.istct.cyceron.fr)

