



Caen, le 22 Novembre 2021

Rapport du Projet « Implication des kinases NDR et de leur substrat « YAP » dans le processus métastatique des cancers bronchiques non à petites cellules » mené par Mr Teulier sous la codirection de Mme Guénaëlle Levallet et Mr Emmanuel Bergot avec le soutien de l'AIR.

Objet du soutien financier sollicité auprès de l'AIR :

Le soutien financier sollicité auprès de l'AIR en 2020 avait pour objectif de financer les expérimentations d'un projet scientifique dont l'objectif principal était de déterminer si l'expression de la kinase NDR2 pouvait prédire la formation de métastases cérébrales chez les patients atteints de CBNPC en comparant les niveaux d'expression de cette kinase NDR2 et de son substrat, YAP, entre patients atteints d'un CBNPC opéré localisé (non métastatique) et patients atteints de CBNPC métastatique et si ces niveaux d'expression varient entre tumeurs primitives et métastases cérébrales chez les patients atteints de CBNPC métastatique.

Contexte scientifique :

Le gène *RASSF1A* est un gène suppresseur de tumeur dont la fonction est perdue chez près de 25% des patients atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules (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).

Nous avons pu établir que la kinase Hippo, NDR2, véhicule le phénotype métastatique que provoque la perte d'expression de *RASSF1A*. En effet, l'absence de *RASSF1A* active la kinase NDR2 (Keller et al., 2019) ce qui perturbe le bon fonctionnement à la fois :

- 1) de la voie Hippo : l'effecteur terminal de cette voie, YAP, étant alors anormalement actif dans les cellules tumorales, il permet la transcription de gène impliqué dans la prolifération, la TEM et l'invasion cellulaire, et
- 2) de la voie des petites GTPases Rho : RhoB est inactivée et n'assure ainsi donc plus ses propriétés anti-migratoires (Dubois et al., 2016).

Nous savons qu'inhiber la kinase NDR2 contrecarre les désordres cellulaires provoquées par l'absence de *RASSF1A* (inhibe la formation de xénogreffes sous-cutanées chez la souris SCID beige, ainsi que leur capacité à métastaser notamment au niveau pulmonaire).

Nous souhaitons donc déterminer l'implication de cette kinase dans le processus métastatique des CBNPC quel que soit leur fond génétique et l'impact de son expression sur le potentiel de récurrence de patients localisés, en quantifiant l'expression de NDR2 et des membres de son interactome chez entre patients atteints d'un CBNPC opéré localisé (non métastatique) et patients atteints de CBNPC métastatique et si ces niveaux d'expression sont les mêmes ou différents entre tumeurs primitives et métastases cérébrales chez les patients atteints de CBNPC métastatique.

Résultats Principaux :

L'expression de NDR2 et YAP a été étudiée par immunohistochimie sur les prélèvements tumoraux de 25 patients atteints de CBNPC localisé (non-métastatique) et 25 patients porteurs d'un CBNPC et de métastases cérébrales. Chaque immunomarquage a été évalué en calculant un H-Score (intensité du marquage (0: nulle, 1: faible par rapport au témoin interne (cellule épithéliale saine), 2 : modérée et 3: forte) x le % de cellules tumorales marquées, ce qui donne un score possiblement compris entre 0 et 300) par le Dr Bazille, médecin anatomopathologique au CHU de Caen.

L'expression de NDR2, ou YAP, était observée dans les cellules saines, les cellules stromales et les cellules tumorales. La localisation subcellulaire de NDR2 est le plus souvent cytoplasmique, parfois membranaire. Le H-Score de NDR2 est significativement plus faible dans les tumeurs primitives de patients atteints d'un CBNPC localisé ($136,4 \pm 10,4$) que dans les tumeurs primitives de patients atteints d'un CBNPC métastatique ($192,4 \pm 6,5$).

L'expression nucléaire de YAP est plus fréquente dans les tumeurs primitives des patients atteints de CBNPC métastatique (70,6% des patients) que dans les tumeurs primitives des patients atteints de CBNPC localisé (44% des patients), mais pour ce marqueur, aucune différence d'expression nucléaire (H-Score) n'est observée dans les tumeurs primitives entre les deux groupes de patient.

Dans un second temps, le H-Score de chacun de ces marqueurs est comparé entre les tumeurs primitives versus leurs métastases pour chaque patient. Il apparaît une différence significative du H-Score de YAP nucléaire, avec une expression nucléaire de YAP passant de $23,5 \pm 10,3$ dans la tumeur primitive à $57,8 \pm 9,4$ dans les métastases. Il est de plus à noter, que si seulement 70,6% des patients présentaient une expression nucléaire de YAP (YAP possiblement actif) dans leur tumeur primitive, une expression nucléaire de YAP est rapportée dans 94% de leur métastase cérébrale.

En démontrant que l'expression de NDR2 est plus forte dans les tumeurs primitives des patients atteints de CBNPC présentant des métastases cérébrales que dans celles des patients ayant un CBNPC localisé, nous apportons une preuve supplémentaire de la fonction pro-métastatique de NDR2. Que l'expression de YAP ne soit pas strictement corrélée à cette kinase, suggère l'implication d'autres partenaires qu'il serait intéressant de rechercher, dans une démarche d'identification de nouveaux biomarqueurs.

Retombées :

Grâce au soutien de l'AIR, nous avons pu finaliser une étude qui va dorénavant pouvoir être soumise pour publication dans un journal à comité de relecture international.

Ce travail va se poursuivre en identifiant un potentiel inhibiteur pharmacologique de la kinase NDR2, grâce à une collaboration que nous allons renforcer 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 inhibitrices des NDR.

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



Normandie Université