



08.06
2023
de 8h30 à 17h

Découvrez les travaux des doctorant.es et post-doc de la SFR Icat

Faculté de Santé

site Amsler - amphi. Ambroise Paré

Conférence plénière

Pr Michel Cogné

Professeur d'immunologie - Université Rennes I et CHU Rennes

**"Adoptive immunotherapies:
past, present and future"**

INSCRIVEZ-VOUS
AVANT LE 17 MAI



PROGRAMME
COMPLET





Introduction à la Journée de la SFR ICAT 2023

La journée thématique 2023 de la SFR ICAT aura cette année pour thème « **Adoptive immunotherapies: past, present and future** » et sera illustrée par une conférence plénière du **Professeur Michel Cogné** (MOBIDIC – UMR INSERM 1236 Microenvironnement and B-cell: Immunopathology Cell Differentiation and Cancer – Université de Rennes). Le choix de cette thématique répond bien évidemment à des questions scientifiques et sociétales actuelles.

Cette journée est une occasion unique pour les masters, doctorants et post-doctorants de présenter leurs travaux et de vivre une première expérience « grandeur nature » de communication de leurs travaux. Il s'agit également d'une excellente opportunité pour les équipes de recherche de notre site angevin d'exposer leurs travaux et savoir-faire dans leurs domaines d'expertise respectifs.

La journée scientifique de la SFR constitue enfin un temps de partage d'expérience entre chercheurs et cliniciens au travers de la place réservée à des présentations de membres des équipes cliniques du CHU d'Angers.

La direction de la SFR ICAT remercie chaleureusement les responsables de l'animation scientifique pour l'organisation de cette belle journée qui reste un temps fort de notre communauté scientifique.

Nicolas Papon et Guillaume Mabillean
Direction de la SFR Santé ICAT

Comité organisateur :

Nicolas Papon, Guillaume Mabillean, Flavien Bessaguet, Anaïs Hérivaux, Samuel Legeay, Camille Savary, Stéphanie Pinot, Jérôme Cayon.

Contact :

animsfr@univ-angers.fr

Lieu :

Faculté de Médecine, Site Amsler, amphi Ambroise Paré, Angers



Journée de la SFR ICAT 2023

Programme

8h15-8h45 **Accueil des participants sur le site Ambsler, amphithéâtre Ambroise Paré (Faculté de Médecine)**

8h45-9h00 **Introduction**

Nicolas Papon (Directeur de la SFR ICAT 4208)

Session axe « Os – Immunologie – Cancérologie »

Modérateurs : Hélène Libouban et Alain Morel

9h-10h30

9h00 : **Hélène Racape** (RMeS – REGOS)

Rôle du mycobiote dans un modèle murin d'ostéoporose induite par ovariectomie.

9h15 : **Coralie Noël** (RMeS – REGOS)

Développement d'un modèle d'hypoparathyroïdie chirurgicale chez le rat et caractérisation du phénotype osseux.

9h30 : **Clara Bourreau** (CRCI2NA – MINT)

Impact of tumor heterogeneity & endothelial-to-mesenchymal transition on the response to treatment in non-small cell lung cancer.

9h45 : **Vincent Milon** (ICO – CRCI2NA)

Création ou altération d'uORF par des variants non-codants : nouveau mécanisme d'altération du gène TP53 ?

10h00 : **Chloé Delépine** (CRCI2NA)

Role of Interleukin-34 in pancreatic physiology.

10h15 : **Matthias Touchard** (IRSET)

Validité des matrices emplois-expositions pour l'évaluation de la probabilité à l'exposition professionnelle à la silice cristalline chez des patients porteurs d'une sclérodermie.

10h30-11h15

Pause Café autour des posters





11h15 : **Marine Monnier** (CRCI2NA)

Impact of the ketone body acetoacetate on the functional polarization of human macrophages.

11h30 : **Coralie Mallebranche** (Unité d'onco-immuno-hématologie pédiatrique, CHU d'Angers – CRCI2NA)

Clusterine plasmatique en cours de la neutropénie fébrile chez des adultes traités par chimiothérapie intensive pour une hémopathie maligne : biomarqueur de gravité ?

11h45-12h45 Conférence plénière

Pr Michel Cogné

(MOBIDIC – UMR INSERM U1236 Microenvironment and B-cell: Immunopathology Cell Differentiation and Cancer, Université de Rennes)

« Adoptive immunotherapies: past, present and future »

12h45-14h00 Déjeuner – Posters



Session axe « Nanomédecines »

Modérateurs : Emilie Martinez et Laurent Lemaire

14h00-15h15

14h00 : **Cécile Doualle** (MINT)

Caractérisation de modèles de cellules souches de glioblastome comme outils d'étude de thérapies ciblées.

14h15 : **Adélie Mellinger** (MINT)

The cell penetrating and glioblastoma targeting properties of NFL-TBS.40-63 peptide help liposomes to efficiently cross the blood-brain tumor barrier and specifically target glioblastoma cells.

14h30 : **Marie-Anne Jourdain** (MINT)

Highlighting the benefit of functionalizing liposomes with NFL-TBS. 40-63 peptide as a promising drug delivery system to target glioblastoma.

14h45 : **Gloria Saorin** (Université de Venise – MINT)

VS10 nanoformulations: a Pin1 inhibitor to fight against cancer.

15h00 : **Sébastien Wang** (MINT)

Microfluidic formulation of vancomycin nanocomplexes for the oral treatment of intestinal infection.

15h15 : **Jaspe Chen** (MINT)

Encapsulation de l'amiodarone dans des nanocapsules lipidiques pour le traitement de la fibrillation atriale.

15h30-16h00

Pause Posters



Session axe « Cardiologie – Mitochondries – Toxicologie »

Modérateurs : Mathilde Munier et Salim Khiati

16h00-17h30

16h00 : **Alexia Bodin** (MITOVASC)

TDP-43 is enriched at the centrosome in human cells.

16h15 : **Alicia Baptista Vicente** (MITOVASC)

Implication of mitochondrial dynamics in ascending thoracic aortic aneurysm and dissection.

16h30 : **Alexis Richard** (MITOVASC)

Role of mitochondrial dynamics in abdominal aortic aneurysm.

16h45 : **Claudie Gabillard** (MITOVASC)

TM2D3 : Une nouvelle protéine à l'interface entre réticulum endoplasmique et mitochondrie.

17h00 : **Harmonie Perdreau-Dahl** (MITOVASC)

Rôle de la protéine BIN1 et du transport vésiculaire pour le maintien des tubules T dans l'infarctus myocardique.

17h15 : **Louise Coquereau** (MITOVASC)

In vitro study of the effects of mixtures of environmental pollutants on free fatty acid receptor signaling: FFAR1.

17h30 – ...

Cocktail – Remise des Prix



Partenaires



Contact :

anim sfr@univ-angers.fr





Conférence plénière

Pr Michel Cogné

*MOBIDIC – UMR INSERM U1236 Microenvironment and B-cell:
Immunopathology Cell Differentiation and Cancer, Université de Rennes*

« Adoptive immunotherapies: past, present and future »

Résumé

Immunotherapy is experiencing successive revolutions, notably in the fight against cancer, harnessing the power of the immune system to more efficiently and more specifically (*i.e.* with less adverse effects) target cancer cells than previously available treatments. Besides the development of immune checkpoint inhibitors, new immunostimulatory strategies, next-generation antibodies and the advent of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy now define a new landscape of therapeutic option completing or replacing classical therapeutic regimen. Adoptive immunotherapy already shows remarkable efficacy towards some hematological malignancies, but other forms of cancer immunotherapy are also emerging and their prospective is highly promising, both by using new targets and by developing new innovative strategies. After cytotoxic T cells, the ability to efficiently carry genetic edition and grow primary cells *ex vivo* is notably opening new avenues for the usage of various lineages of immune cells into adoptive immunotherapy procedures.



Communications orales

Session axe « Os – Immunologie – Cancérologie »

Hélène Racape (*RMes – REGOS*)

Coralie Noël (*RMes – REGOS*)

Clara Bourreau (*CRCI2NA – MINT*)

Vincent Milon (*ICO – CRCI2NA*)

Chloé Delépine (*CRCI2NA*)

Matthias Touchard (*IRSET*)

Marine Monnier (*CRCI2NA*)

Coralie Mallebranche (*Unité d'onco-immuno-hémato-pédiatrique, CHU d'Angers – CRCI2NA*)

Session axe « Nanomédecines »

Cécile Doualle (*MINT*)

Adélie Mellinger (*MINT*)

Marie-Anne Jourdain (*MINT*)

Gloria Saorin (*MINT*)

Sébastien Wang (*MINT*)

Jaspe Chen (*MINT*)

Session axe « Cardiologie – Mitochondries – Toxicologie »

Alexia Bodin (*MITOVASC*)

Alicia Baptista Vicente (*MITOVASC*)

Alexis Richard (*MITOVASC*)

Claudie Gabillard (*MITOVASC*)

Harmonie Pedreau-Dahl (*MITOVASC*)

Louise Coquereau (*MITOVASC*)



Session axe « Os – Immunologie – Cancérologie »

Communication 1

Rôle du mycobiote dans un modèle murin d'ostéoporose induite par ovariectomie.

RACAPE Hélène, BOUVARD Béatrice, MABILLEAU Guillaume

Univ Angers, Nantes Université, Oniris, Inserm, RMeS, REGOS, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

helene.racape@univ-angers.fr

La perte osseuse induite par l'ovariectomie est associée à une augmentation de cellules pro-ostéoclastogéniques, incluant des lymphocytes T, sécrétant une production accrue de cytokines (TNF α , RANKL, IL-17) dans la moelle osseuse mais aussi dans la paroi intestinale. Ces cellules immunitaires sont régulées en partie par le microbiote bactérien intestinal mais aucune donnée n'est disponible concernant le mycobiote. 24 souris (16 ovariectomisées à 12 semaines, 8 opérées « sham ») sont élevées en conditions SOPF. Un antifongique (Fluconazole) ou du NaCl est ajouté à l'eau de boisson pendant 8 semaines avant sacrifice. Il n'y a pas de modification de la résistance ou de la microarchitecture de l'os cortical entre les trois groupes. Concernant l'os trabéculaire, la charge maximale et l'énergie à fracturer une vertèbre est significativement plus basse chez les souris ovariectomisées sans différence entre les deux groupes de traitement. En microarchitecture, seule l'épaisseur des travées osseuses des métaphyses fémorale et tibiale est diminuée sans retentissement sur la masse osseuse totale. La qualité osseuse sera analysée par microspectroscopie à infrarouge. L'analyse du microbiote bactérien et fongique sera réalisée par PCR quantitative et un séquençage sur les selles. Un traitement par Fluconazole chez la souris ovariectomisée n'entraîne pas de modification osseuse. Cependant, ce manque de résultat peut être également expliqué par le fait qu'il n'est pas retrouvé dans cette étude de perte osseuse suite à l'ovariectomie par rapport aux souris « sham ». Une hypothèse est que le statut d'élevage SOPF crée une dysbiose suffisante à modifier le phénotype osseux et limiter la perte osseuse.

Mots-clés : ostéoporose, mycobiote, fluconazole.



Communication 2

Développement d'un modèle d'hypoparathyroïdie chirurgicale chez le rat et caractérisation du phénotype osseux.

NOËL Coralie, MABILLEAU Guillaume

Univ Angers, Nantes Université, Oniris, Inserm UMR_S 1229, RMeS, REGOS, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

coralie.noel@etud.univ-angers.fr

L'hypoparathyroïdie est une pathologie définie par une diminution voire une absence d'hormone parathyroïdienne circulante, accompagnée d'une hypocalcémie. La majorité des cas interviennent à la suite d'une chirurgie du cou, pouvant endommager les glandes parathyroïdes qui produisent l'hormone parathyroïdienne. Cette pathologie entraîne des troubles neuromusculaires, des lithiases rénales et un risque accru de fractures en présence d'une augmentation de la densité osseuse. Les traitements existants ne permettent pas de diminuer les risques de fractures. Il est alors nécessaire de développer de nouvelles thérapies. Elaborer un modèle animal adéquat est donc essentiel. Pour cela, des rats Sprague-Dawley mâles âgés de 10 semaines ont subi une parathyroïdectomie (PTX) et ont été comparés à des animaux SHAM. Les animaux ont été sacrifiés 8 semaines après chirurgie. Au moment du sacrifice, du sang et de l'urine ont été prélevés pour la caractérisation biochimique et différentes pièces osseuses ont été récupérées. Les tibias gauches et les vertèbres L4 seront analysés par microtomographie à rayons X afin de définir la microarchitecture. Les fémurs droits, les radius gauches et les vertèbres L2 seront utilisés pour déterminer la résistance biomécanique grâce à des tests de flexion 3 points et de compression. Après flexion 3 points, les fémurs droits et radius gauches seront analysés par microspectroscopie Raman pour évaluer la qualité de la matrice osseuse extracellulaire. L'objectif de cette étude est de caractériser ce modèle animal d'hypoparathyroïdie et de savoir si la pathologie induite engendre une modification des paramètres investigués.

Mots clés : hypoparathyroïdie, modèle animal, os.



Communication 3

Impact of tumor heterogeneity & endothelial-to-mesenchymal transition on the response to treatment in non-small cell lung cancer.

C. Bourreau^{1,3}, H. Bouchenaki², F. Bessaguet², S. El Ali², C. Abbara², M. Briet², D. Fradin³, L. Treps³, N. Clere¹

¹Angers Université, INSERM UMR 1066, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

²Service de Pharmacologie-Toxicologie et Pharmacovigilance, Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers, France

³Nantes Université, INSERM UMR 1307, CNRS UMR 6075, Université d'Angers, CRCI2NA, F-44000 Nantes, France

clara.bourreau@etud.univ-angers.fr

The mutational heterogeneity of non-small cell lung cancer (NSCLC) has enabled the development of new targeted therapies. Heterogeneity also exists within the tumor microenvironment where endothelial cells (ECs) help promoting tumor growth and dissemination, through angiogenesis and the endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT), two processes also involved in chemoresistance. The aims of our study were (i) to evaluate the pharmacological profile of several anti-cancer drugs on NSCLC cell lines and (ii) to determine the role of their secretome on ECs. First, 16 tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and 6 conventional chemotherapies were evaluated on the viability of NSCLC cells (A549 & H1755). The impact of A549 and H1755's conditioned media (CM) was assessed on ECs after 48h and 72h, studied by flow cytometry and functional tubulogenesis assay. In parallel, CM composition was explored by mass spectrometry to identify potential EndMT inducers. Based on the 50% inhibitory concentration of each drug, 6 TKIs and 4 cytotoxic agents showed a significant tumor cell viability inhibition. Moreover, EC treatment with NSCLC CMs resulted in EndMT with a loss in the EC tube formation capacity as early as 48h of treatment with a higher proportion of ECs expressing mesenchymal proteins. Interestingly, mass spectrometry revealed the presence of EndMT-related proteins found in the CM of cancer cells including FSP1 or SPARC. Preliminary data showed that few TKIs inhibit tumor cell viability. These results can be explained by the presence of non-targeted mutations and genomic studies should be conducted to confirm this hypothesis. Furthermore, we report that CMs from NSCLC cell lines could induce the EndMT that can modulate the response to various antitumor drugs. In parallel, the identification of tumor cell-secreted EndMT inducers may open new perspectives in the search for new potential targets in the treatment of NSCLC.

Mots-clés : NSCLC, tumor microenvironment, EndMT, pharmacological testing, conditioned media.



Communication 4

Création ou altération d'uORF par des variants non-codants : nouveau mécanisme d'altération du gène TP53 ?

Vincent Milon^{1,2*}, Luisa Vergori^{1,2*}, Marie Béquin^{1,2}, Fida Khater^{1,2}, Omar Soukarieh³, Caroline Meguerditchian³, Jonathan Dauvé^{1,2}, Louise-Marie Chevalier^{1,2}, Gaëlle Bougeard-Denoyelle⁴, David-Alexandre Tregouet³, Yves Delneste¹, Alain Morel^{1,2}, Isabelle Tournier^{1,2}

* Contribution égale

¹Univ Angers, UMR Inserm 1307 – CNRS 6075, CRCI 2 NA, Equipe 4 « Immunité Innée et Cancer », Angers

²Unité de Génomique Fonctionnelle, Institut de Cancérologie de l'Ouest, Angers

³Univ Bordeaux, Bordeaux Population Health Research Center, UMR Inserm 1219, Bordeaux

⁴Univ Rouen, UMR Inserm 1245 et Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rouen, Rouen

vincent.milon@ico.unicancer.fr

TP53 est un gène suppresseur de tumeur codant pour le facteur de transcription p53, qui active de nombreux gènes cibles en réponse à un stress cellulaire. La fonction de p53 est altérée au niveau somatique dans la moitié des cancers humains, et constitutionnellement dans le syndrome de Li-Fraumeni qui prédispose à certains cancers pédiatriques et de l'adulte. Les variations pathogènes de TP53 décrites à ce jour concernent essentiellement les parties codantes du gène. A l'ère du séquençage génome entier, les descriptions de variants touchant les régions non-codantes (introns, 5' et 3'-UnTranslated Regions - UTR, séquences régulatrices) s'accumulent, mais sont rarement analysées en routine. De tels variants peuvent pourtant moduler l'effet d'un variant pathogène, voire être le facteur exclusif de pathogénicité chez certains patients. Pour un variant de la région 5'UTR d'un gène, la création ou l'altération d'un cadre de lecture ouvert en amont du gène (upstream Open Reading Frame, uORF) est un mécanisme possible de pathogénicité. Les uORFs peuvent altérer l'efficacité de la traduction de la protéine p53, diminuant la quantité de protéine synthétisée. Une première évaluation in silico de 3 outils de prédiction spécialisés a été réalisée pour toutes les substitutions nucléotidiques du 5'UTR de TP53. A l'aide d'un gène rapporteur transfecté dans une lignée cellulaire MCF-7, nous étudierons l'impact de variants introduits dans la région 5'UTR sur la quantité de protéine produite. Ce test ciblé fournira des données fonctionnelles concernant des variants identifiés dans des prélèvements tumoraux ou constitutionnels de patients, ou priorités par les algorithmes de prédiction.

Mots-clés : TP53, uORF, non-codant.



Communication 5

Role of interleukin-34 in pancreatic physiology.

Chloé Delépine¹, Laurence Preisser¹, Raffaella Solet¹, Emilie Courty³, Laetitia Basset¹, Jean-Sébastien Annicotte³, Yves Delneste¹, Pascale Jeannin^{1,2}, Céline Beauvillain^{1,2}

¹Université Angers, Université de Nantes, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000, France

²Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, France

³Université Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1167-RID-AGE, F-59000 Lille, France

chloe.delepine@etud.univ-angers.fr

Type 2 diabetes is mostly induced by obesity, and is characterized by sustained hyperglycemia linked to a decreased insulin tissue sensitivity associated to adipose tissue expansion and accompanied by inflammation. This inflammation leads to monocytes recruitment in the pancreas that will differentiate into proinflammatory macrophages. Macrophages play various roles in tissue homeostasis and repair, host defense and inflammation. They are plastic cells that polarize in different ways depending on the signal they receive. Among these signals, Interleukin 34 (IL-34) an alternative ligand for CD115 as well as M-CSF regulates macrophages survival and confers an immunoregulatory phenotype. In the laboratory, we have observed a constitutive production of IL-34 by β -cells from human pancreas Langerhans islets. Interestingly, this expression is increased in Langerhans islets of type 2 diabetic patients. Moreover, data from literature have involved IL-34 in type 2 diabetes suggesting that this cytokine could be associated with insulin resistance in the disease. Therefore, we have set up a mouse model invalidated for the IL-34 gene in the pancreatic- β -cells (IL-34 KO). This *in vivo* model has allowed to measure metabolic parameters in physiological and type 2 diabetes conditions. In physiological conditions, we observed that female IL-34 KO mice are more insulin sensitive than control mice. Moreover, diet-induced obesity accelerates the insulin resistance process in control mice but not in IL-34 KO mice. These preliminary results suggest that IL-34 could be a therapeutic target in diabetes due to its direct action on the pancreas or indirectly via pancreatic macrophages.

Mots-clés : Interleukin 34, type 2 diabetes, pancreas.



Communication 6

Validité des matrices emplois-expositions pour l'évaluation de la probabilité à l'exposition professionnelle à la silice cristalline chez des patients porteurs d'une sclérodémie.

Matthias Touchard, Aymeric Bourgeois, Gael Le Roux, Alexis Descatha et Alain Lescoat

IRSET, Angers, Rennes

touchard.mat@hotmail.fr

Introduction :

Bien que nous disposions aujourd'hui d'un large panel de solution pour mesurer des expositions aiguës directement auprès du travailleur, il persiste la question de la mesure des expositions anciennes qui reste à ce jour encore un challenge de santé publique. L'objectif a été de comparer deux matrices emplois expositions (MEE) vis-à-vis de patients hospitalisés au CHU de Rennes pour sclérodémie comparé à un questionnaire individuel personnalisé.

Méthode :

Chaque patient hospitalisé dans le cadre d'une Sclérodémie sur Rennes ayant pu bénéficier d'une évaluation complète de l'exposition par un professionnel lors d'une consultation dédiée, a été inclus. Deux MEE, MEE Française, une MEE Canadienne ont pu être utilisées pour extraire la probabilité d'exposition à la silice cristalline (données continues).

La validité a été étudié à l'aide de courbes ROC (Receiver Operative Characteristic), de leurs aires sous la courbe (AUC) et des rapports de vraisemblance.

Résultats :

Sur 57 patients ayant bénéficié d'une évaluation complète, 8 ont été exposés à la silice cristalline selon l'évaluation individuelle. Pour la MEE française, la validité a retrouvé une AUC 0,96[0,92-0,99] avec un rapport de vraisemblance positif (RVP) de 12,25[4,79-16,21] et négatif (RVN) à 0. La MEE Canadienne présente elle une AUC=0,82 [0,75-0,88] avec un RVP 2,72[1,89-3,60] et RVN à 0.

Conclusion :

Malgré les limites de ces approches et de l'échantillon, la matrice française a une validité satisfaisante pour être utilisée pour dépister les situations d'expositions passées à la silice cristalline. D'autres études seront nécessaires pour confirmer le résultat.

Mots-clés : exposition professionnelles, validité, matrice emplois-exposition.





Communication 7

Impact of the ketone body acetoacetate on the functional polarization of human macrophages.

Marine Monnier¹, Laurence Preisser¹, Yves Delneste^{1,2}, Pascale Jeannin^{1,2}

¹Univ Angers, Nantes Université, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000 Angers

²Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, F-49000 Angers

marine.monnier@univ-angers.fr

Macrophages are involved in many physiological processes. They therefore present a great diversity of function, associated with a multitude of phenotypes. The acquisition of the phenotype is dictated by signals present, locally, in the tissue in which they reside. Recent studies have underlined the pivotal role played by nutrients and metabolites, such as ketone bodies, in the polarization of macrophages. The objective of this study was to determine the impact of the ketone body, Acetoacetate, on the functional polarization of human macrophages. Human monocytes were differentiated into macrophages in the presence of M-CSF (M ϕ) or M-CSF + AcAc (AcAc-M ϕ). The macrophage phenotype was determined at the molecular (RT-qPCR, ChIP) and protein levels (ELISA). AcAc-M ϕ display a regulatory phenotype (IL-10^{hi} IL-12^{lo}) and produce growth and angiogenic factors, a phenotype similar to cells in wound healing. Interestingly, transcriptomic analysis reveals that AcAc-M ϕ sequentially acquire the expression of genes involved in the different phases of tissue repair with an early expression inflammation genes, an expression of the angiogenic factor VEGF-A at intermediate times and an elevated expression of genes involved in tissue remodeling at the latest times. The sequential acquisition of these transcripts suggests epigenetic regulation. Accordingly, we observe that the acquisition of this phenotype relies on modifications of the histone H3K27 methylation in the promoters of targeted genes. We show that AcAc induces *in vitro* the generation of a new subtype of macrophages involved in tissue repair and that the sequential acquisition of these transcripts is regulated by modification of H3K27 methylation. These data provide new insights into the molecular mechanisms involved in macrophage plasticity.

Mots-clés : macrophages, acetoacetate, polarization.



Communication 8

Clusterine plasmatique en cours de la neutropénie fébrile chez des adultes traités par chimiothérapie intensive pour une hémopathie maligne : biomarqueur de gravité ?

Coralie Mallebranche^{1,2*}, Carole Mosnier^{3,4*}, Corentin Orvain^{1,3,4}, Jérémie Riou⁵, Sylvain Thepot^{1,3,4}, Pascale Pignon¹, Simon Blanchard^{1,6}, Mathilde Hunault-Berger^{1,3,4}, Pascale Jeannin^{1,6}, Yves Delneste¹, Isabelle Pellier^{1,2}, Céline Beauvillain^{1,6*}, Aline Schmidt-Tanguy^{1,3,4*}

* Contribution égale

¹Université Angers, Université de Nantes, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000, France

²Unité d'onco-immuno-hémato pédiatrique, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

³Fédération Hospitalo-Universitaire 'Grand-Ouest Acute Leukemia' (FHU-GOAL), Angers, France

⁴Service des maladies du sang, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

⁵Département de Biostatistiques et de Méthodologie, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

⁶Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

coralie.mallebranche@inserm.fr

La neutropénie fébrile est un évènement fréquent chez les patients traités par chimiothérapie pour une hémopathie, grevée d'une morbi-mortalité importante. Identifier des facteurs précoces de risque de gravité autres que les facteurs cliniques pourrait permettre d'améliorer la prise en charge, avec par exemple un transfert précoce en unité de soins intensifs. La clusterine (CLU) est une protéine chaperonne capable de se fixer aux histones circulants relargués lors d'une mort cellulaire importante, notamment lors des sepsis sévères. Des études récentes du laboratoire ont montré que, chez des adultes non neutropéniques en sepsis sévère, des taux sériques faibles de CLU à l'admission et leur absence de normalisation sont associés à une mortalité plus importante. Ces taux de CLU sont inversement corrélés aux taux d'histones circulantes. Aucune étude n'a été réalisée dans les neutropénies fébriles. Le dosage de CLU plasmatique est réalisé chez 159 patients prélevés avant chimiothérapie puis à H0 et \geq H48 de la neutropénie fébrile. Nous observons une différence significative de la valeur de CLU entre les groupes de neutropénie sévère ou non (pas de sepsis / sepsis / sepsis sévère), avec une diminution précoce des taux dans le groupe sepsis sévère ($p=0.0409$). Cette évolution est également différente entre les deux groupes de gravité basés sur le score SOFA ($p=0.0127$). Les taux circulants de CLU sont abaissés lors des épisodes de sepsis sévères. Déterminer si CLU pourrait être un biomarqueur précoce de gravité dans les neutropénies fébriles pourrait avoir un impact sur les décisions de transfert précoce en unité de soins intensifs.

Mots-clés : neutropénie fébrile, hémopathie maligne, clusterine.



Session axe « Nanomédecines »

Communication 1

Caractérisation de modèles de cellules souches de glioblastome comme outils d'étude de thérapies ciblées.

Cécile Doualle¹, Julien Gouju^{1,2}, Yousra Nouari¹, Camille Trumeau¹, Patrick Saulnier¹, Joël Eyer¹, Franck Letournel^{1,2}

¹Univ Angers, CHU Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

²Département de pathologie, CHU Angers, F-49000 Angers, France

Le glioblastome est la tumeur primitive la plus fréquente et agressive du système nerveux central. La présence de cellules souches de glioblastome (CSG) au sein de la tumeur est associée à la résistance thérapeutique et aux rechutes. Les CSG constituent donc une cible d'intérêt majeur pour traiter le glioblastome de façon durable. La mise au point de thérapies ciblant les CSG doit prendre en compte leurs spécificités et nécessite donc d'avoir des modèles de CSG *in vitro* robustes et bien caractérisés. Nous avons optimisé un protocole de dédifférenciation permettant d'établir 4 modèles de CSG à partir de lignées humaines de glioblastome (U-87MG, U-251MG, U-118MG et T98-G). Les cellules dédifférenciées s'assemblent rapidement en gliosphères, structures cellulaires 3D caractéristiques des CSG. Les résultats de cytométrie en flux, de RT-qPCR et d'immunocytochimie montrent que des marqueurs de cellules souches et de CSG de phénotype mésenchymateux sont surexprimés au sein des cellules dédifférenciées, par comparaison à leur lignée d'origine. Cette caractérisation a montré de fortes similarités entre les modèles dédifférenciés et deux lignées de CSG issues de patients (BTIC). Ces modèles de CSG sont donc des outils robustes pour l'identification de cibles thérapeutiques. De plus, nous avons pu mettre en évidence l'acquisition de chimiorésistance au sein des cellules dédifférenciées par rapport aux lignées d'origine. Ces modèles sont actuellement utilisés pour évaluer des combinaisons de thérapies ciblées afin de surpasser la résistance des CSG.



Communication 2

The cell penetrating and glioblastoma targeting properties of NFL-TBS.40-63 peptide help liposomes to efficiently cross the blood-brain tumor barrier and specifically target glioblastoma cells.

Adélie Mellinger^{1,2}, Larissa Lubitz³, Claire Lépinoux-Chambaud¹, Géro Leneweit³, Guillaume Bastiat² and Joël Eyer²

¹GlioCure SA, Angers, France

²Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, Angers, France

³Abnoba GmbH, 75223 Niefen-Oeschelbronn, Germany

adelie.mellinger@univ-angers.fr

To enhance the transport of therapeutics to glioblastoma, the most common and aggressive brain tumor, we developed liposomes functionalized with a neurofilament-derived peptide: NFL-TBS.40-63 (NFL), known for its highly selective targeting of glioblastoma cells. Nevertheless, the drug delivery to the brain is a major challenge due to the blood-brain barrier (BBB), which limits the delivery of drugs to the pathological site. *In vitro* BBB model was developed (using Transwell® device and a endothelial cell line monoculture) to check whether the NFL can also promote barrier crossing in addition to its active targeting capacity, by performing cytometry and confocal microscopy analyses. First, NFL alone was able to cross the BBB showed by permeability experiments. Moreover, when the BBB was in a pathological situation, i.e., a blood-brain tumor barrier (second model using Transwell® device, developed from a co-culture of endothelial and glioblastoma cells), the passage of NFL was greater while maintaining its glioblastoma targeting capacity. Secondly, when NFL was associated to liposomes, it enhanced their ability to cross the BBTB and to be internalized into glioblastoma cells, compared to liposomes without NFL. The cellular uptake of liposomes was limited in the endothelial cell monolayer in comparison to the glioblastoma one. These data indicated that NFL is a promising cell-penetrating peptide tool when combined with drug delivery systems for the treatment of glioblastoma. The NFL and liposome biodistributions will be further studied using a tumor-bearing mouse model to validate these *in vitro* findings.

Mots-clés : NFL-TBS.40-63 peptide, liposomes, glioblastoma.



Communication 3

Highlighting the benefit of functionalizing liposomes with NFL-TBS. 40-63 peptide as a promising drug delivery system to target Glioblastoma.

Jourdain M-A.¹, Dupont A.² and Eyer J.¹

¹Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

²Univ Rennes, CNRS, Inserm, BIOSIT-UMS 3480, US_S 018, Rennes, France

marie-anne.jourdain@univ-angers.fr

Due to its aggressive nature and low survival rate, glioblastoma brain cancer is challenging us to continuously develop highly effective therapeutic tools. In recent years, the development of drug delivery systems, such as nanoparticles has been major focus for GBM therapy. When NFL-peptide was discovered almost 20 years ago, its targeting abilities were assessed in combination with lipid nanocapsule (LNC) or gold nanoparticle (AUNP). Results highlighted a better targeting of GBM cells yet, no one tried to combine NFL-peptide with liposomes so far. Therefore, this work explored the ability of liposomes-peptide NFL coupling as a promising therapy. The Dynamic Light Scattering (DLS) complemented by Cryo-electron microscopy (CEM) showed a particular structural arrangement between NFL-peptides (NFL, FAM-NFL, and BIOT-NFL) and liposomes. Based on this architecture, we investigated the biological role of these NFL-peptides in LPS-DiD glioblastoma cellular uptake. The flow cytometry complemented by confocal microscopy experiments demonstrated a consequent increase of LPS-DiD into F98 cells when their surface was decorated with NFL-peptides. Finally, we evaluated the distribution of these liposomes via an organelle tracker and founded the presence of LPS-DiD in lysosomes after 4 hours of internalization. Based on the targeting property of the NFL-peptide, we affirm in this work the crucial role of NFL peptide as an effective and promising actor to potentiate nanoparticles entry in glioblastoma cell lines.

Mots-clés : liposome, cell uptake, bio distribution.



Communication 4

VS10 nanoformulations: a Pin1 inhibitor to fight against cancer.

Gloria Saorin^{1,2,3}, Andrea Bottasso³, Nolwenn Lautram³, Elise Lepeltier³, Flavio Rizzolio^{1,2}

¹Department of Molecular Sciences and Nanosystems, Ca'Foscari University of Venice, Venezia-Mestre, Italy

²Doctoral School in Science and Technology of Bio and Nanomaterials, Ca'Foscari University of Venice, Venezia-Mestre, Italy

³Micro et Nanomédecines Translationnelles, MINT, UNIV Angers, INSERM 1066, CNRS 6021, Angers, France

gloria.saorin@etud.univ-angers.fr

Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1 (Pin1) is an enzyme that catalyses the cis-trans isomerization of Proline residue when presented in a phosphorylated Serine/Threonine motif. This isomerization affects proteins functions in cell. Pin1 is associated with cell proliferation and indeed it is overexpressed in different tumours such as ovarian, breast and lung cancers¹. Different Pin1 inhibitors were developed, such as Juglone, all-trans retinoic acid and arsenic trioxide² but the inhibition of Pin1 is still under study to combine strong activity and selectivity. Exploiting consensus docking approach, a new inhibitor was discovered and defined as VS10. VS10 was proved to be very active in inhibiting Pin1 and to have an effective antiproliferative effect over ovarian cancer cell lines³. However, VS10 is poorly water soluble. As demonstrated for other hydrophobic drugs for cancer treatment, its encapsulation into drug delivery systems (DDS) can improve its biodistribution, stability and solubility. Firstly, nanocrystals of VS10 were developed and studied both *in vitro* and *in vivo* for the treatment of ovarian cancer: nanocrystals confirmed the biological efficacy of VS10. However, to improve VS10 biodistribution, lipid nanocapsule (LNC) formulation were developed. Patented by MINT since 20024, LNC have already demonstrated to be particularly suitable for lipophilic drug⁵ and their surface functionalization would allow to obtain an active targeting of the tumour.

Mots-clés : cancer, Pin1, drug delivery.



Communication 5

Microfluidic formulation of vancomycin nanocomplexes for the oral treatment of intestinal infections.

Sébastien Wang, Guillaume Lefebvre, Marie Bonnin, Jean-Christophe Gimel, Camille Savary, Brice Calvignac

Laboratoire MINT

sebastien.wang@univ-angers.fr

Resistance to antimicrobial therapies is a rising problem that could make infections impossible to treat and bring the state of medical care back to the pre-antibiotic era from the beginning of the last century. Indeed, the extensive use of antimicrobials, such as antibiotics, has led to the apparition of a growing multiresistance phenomenon. A promising solution could be the development of efficient Drug Delivery Systems (DDS) delivering the antibiotics. The targeting of these DDS would increase their efficiency, hence a lower dosage resulting in a lower antimicrobial resistance. The project challenge is to develop an effective formulation process of vancomycin DDS. Vancomycin (VCM) is an antibiotic used to treat bacterial infections, such as *Clostridium Difficile* colitis. It is one of the most prescribed antibiotics for nosocomial infections. One of the solutions could be the nanocomplexation of VCM with an anionic polyelectrolyte such as Polyacrylic Acid (PAA) to form VCM/PAA nanocomplexes. Polyelectrolyte complexes (PECs) have been widely investigated as DDS for their favorable properties. Their formulation through a microfluidic process allows a good control of the process parameters which provides optimized and reproducible nanoparticles. A "Layer-by-layer" assembly of polyelectrolytes (+/-) on the nanoparticle's surface is investigated with a tangential flow filtration device to functionalize the nanocomplexes. Promising results prove the feasibility of the nanoparticles formulation process. The particles characteristics are compatible for an oral delivery and can provide a sustain release. Biologics assays will be conducted to measure the cellular toxicity, biological activity, and the particle / pathogen interactions.

Mots-clés : nanocomplexes, vancomycin, microfluidic.



Communication 6

Encapsulation de l'amiodarone dans des nanocapsules lipidiques dans le traitement de la fibrillation atriale.

Chen Jaspe^{1,2}, Lefebvre Guillaume¹, Calvignac Brice¹, Martinez Emilie¹, Tamareille Sophie³, Saulnier Patrick^{1,2}

¹Micro et Nanomédecines Translationnelles (France)

²CHU d'Angers (France)

³MitoVasc Equipe CarME (Cardiovascular Pathophysiology) (France)

jaspe.chen@etud.univ-angers.fr

Arythmie cardiaque la plus fréquente, la fibrillation atriale est une pathologie dont l'incidence croît avec l'âge. Aujourd'hui, ce sont près d'un million de Français concernés, avec une majorité de patients de plus de 75 ans. Qu'elle soit asymptomatique, symptomatique ou altérant fortement la qualité de vie du patient, la fibrillation atriale est une affection de longue durée difficile à contrôler à cause de sa physiopathologie complexe et évolutive. Les traitements disponibles, chirurgicaux ou pharmacologiques, ne permettent pas d'obtenir un contrôle du rythme sinusal soutenu dans le temps. L'amiodarone, molécule pharmacologique antiarythmique puissante, en est un exemple. Son manque de spécificité et son accumulation dans les tissus gras nécessitent l'usage de doses élevées entraînant l'apparition de nombreux effets indésirables parfois non réversibles et qui peuvent conduire à l'interruption de traitement. Les nanomédecines représentent une stratégie thérapeutique pertinente pour améliorer à la fois la spécificité d'organe de l'amiodarone et son efficacité. En effet, l'encapsulation de l'amiodarone dans des vecteurs biocompatibles permet de remplacer les propriétés physico-chimiques de l'amiodarone par celles du vecteur afin de modifier son profil pharmacocinétique et de diminuer les doses utiles. L'objectif de ce travail est de développer des nanomédicaments d'amiodarone par un procédé de formulation peu énergivore et industrialisable, purifier les nanovecteurs obtenus, les caractériser en termes physico-chimiques et évaluer leur efficacité et leur toxicité, *in vitro* sur des modèles cellulaires et *ex vivo* sur des coeurs de rats isolés perfusés selon la technique de Langendorff.



Session axe « Cardiologie – Mitochondries – Toxicologie »

Communication 1

TDP-43 is enriched at the centrosome in human cells.

Alexia Bodin¹, Logan Greibill², Arnaud Chevrollier¹, Guy Lenaers¹, Julien Cassereau³, Anne-Marie Tassin², Philippe Codron^{1,3,4}

¹University of Angers, Inserm U1083, CNRS 6015, MITOVASC Institute, Angers, France

²Institute for integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Paris-Saclay University, Gif sur Yvette, France

³ALS Resource and Competence Center, University Hospital Center of Angers, Angers, France

⁴Neurobiology and neuropathology laboratory, University Hospital Center of Angers, Angers, France

alexia.bodin@univ-angers.fr

TDP-43 is a ubiquitous protein belonging to the RNA Binding Protein (RBP) family. The protein is mainly localized in the nucleus of the cells where it modulates mRNA metabolism through its N-terminal RNA recognition motifs. TDP-43 plays a key role in the pathophysiology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS), but the precise mechanisms by which the protein contributes to neurodegeneration remain unclear. In recent years, interest has been growing in the presence of RBPs at the centrosome of cells since nucleic acids and ribosomes have been identified within this organelle. Given the structural and functional characteristics of TDP-43, we hypothesized that the centrosome might be a prime location for the protein in cells. We thus investigated the presence of TDP-43 at the centrosome of cultured cells using specific and resolutive techniques such as centrosome purification and super resolution imaging. Immunofluorescence microscopy first allowed us to observe a centrosomal enrichment of TDP-43 in cultured cells, using different primary antibodies and cell lines. This result was further confirmed by western blot and fluorescence imaging analysis performed on purified centrosomes. Super-resolution microscopy allowed us to specify that TDP-43 was localized at the pericentriolar matrix of the centrosome. Finally, we identified more than 20 centrosomal proteins in the literature that have been reported to be TDP-43 interactors and ALS-related proteins, strengthening the link between TDP-43 and the centrosome. In this study we identified a novel localization of TDP-43 in human cells, opening new perspectives in the understanding of physiological and pathological functions of the protein.

Mots-clés : amyotrophic lateral sclerosis, TDP-43, centrosome.



Communication 2

Implication of mitochondrial dynamics in ascending thoracic aortic aneurysm and dissection.

A. Baptista Vicente¹, A. Richard¹, M. Eid^{1,2}, L. Grimaud¹, A. Toutain¹, B. Toutain¹, D. Henrion¹, O. Fouquet^{1,2}, L. Loufrani¹

¹UMR CNRS 6015, INSERM U1083, MitoVasc Institute, Carmel Team, University of Angers, France

²CHU of Angers, France

alicia.baptistavicente@univ-angers.fr

Ascending thoracic aortic aneurysms and dissections are fatal pathologies of the aorta. The study of the physiopathological mechanisms of these pathologies highlights a medial degeneration characterized by extracellular matrix degradation and a dysregulation of the smooth muscle cells (SMC). However, no mechanistic difference between these two pathologies was found. In this context, the study of the energetic function of SMC through the study of mitochondrial dynamics seems interesting. This adapts the morphology of the mitochondrial network according to energy needs, thanks to a constant balance of mitochondrial fusion (OPA1, MFN1/2) and fission (DRP1, FIS1) phenomena. Our objective is to study mitochondrial dynamics implication in aortic aneurysm and dissection. The ascending thoracic aortic tissue samples are from three patient groups (20/groups): control (valve replacement, coronary artery bypass), aneurysm and dissection. An extraction of the SMC is performed in order to determine the mitochondrial network morphology by confocal microscopy via a MitoTracker green staining. A decreasing trend in mitochondrial size and shape, as well as overall connectivity and morphology of the mitochondrial network is observed after staining primary SMC of aneurysm and dissecting groups compared to the control group. However, no differences were observed between the aneurysm and dissection groups. The analysis performed on a small number of samples ($n < 10$ /group) with regard to the number of patients not yet included, requires additional analyses of the transcriptional and protein expression of mitochondrial homeostasis of primary SMC and aortic tissues.



Communication 3

Role of Mitochondrial Dynamics in Abdominal Aortic Aneurysm.

A. Richard, A. Baptista-Vicente, A. Toutain-Barbelivien, L. Grimaud, B. Toutain, C. Tetaud, D. Henrion, L. Loufrani

UMR CNRS 6015, INSERM U1083, MitoVasc Institute, CarMe Team, University of Angers, France

alexis.richard@univ-angers.fr

Abdominal aortic aneurysm (AAA) is an asymptomatic pathology representing 75% of aortic aneurysms and occurring mainly in men over 65 years old, with a high mortality rate (80%) due to aortic rupture. Currently, only surgical management are used, and no pharmacological treatment exists. A potential therapeutic track would be the regulation of mitochondrial functions, already involved in neurological, ophthalmic, and cardiac pathologies. However, mitochondrial dynamics regulation, especially important within smooth muscle cells, is still untapped in abdominal aortic aneurysm. Our aim is to understand the role of mitochondrial dynamics in abdominal aortic aneurysm. We used a murine model of 6 months old of hypertensive *Ldlr*^{-/-} male mice (angiotensin II, 1 mg/kg/day) associated with an hypercholesterolemic diet (HCD) or a high fat diet (HFD) for 28 days. Moreover, 6 months old *opa1*^{+/-} hypertensive male mice were used to study aortic remodeling. Aortic samples were studied by histomorphometric analyzes, RT-qPCR and Western blot. *Ldlr*^{-/-} mice suffering from an abdominal aortic aneurysm showed a significant increase in mitochondrial fission (*FIS1*, *DRP1*) and mitophagy (*PARKIN*, *PINK1*). In addition, our results demonstrated strong pathological adventitial remodeling in supra-renal abdominal aorta in *opa1*^{+/-} hypertensive mice with a significant increase of *Mmp2/Timp2* ratio in gene expression involved in aneurysm remodeling. Those results were associated with a significant decrease in smooth muscle cell contraction gene expression, inducing phenotypic cell switch, and pathological arterial remodeling. All those results demonstrate that mitochondrial dynamics dysfunction associated with hypertensive stress are involved in abdominal aortic aneurysm development.

Mots-clés : aortic aneurysm, mitochondria, cholesterol.



Communication 4

TM2D3 : Une nouvelle protéine à l'interface entre réticulum endoplasmique et mitochondrie.

Claudie GABILLARD¹, Caroline Silveira MARTINEZ¹, Mireille WERTHEIMER¹, Anne GUIMIER², Guy LENAERS¹, Mathilde NIZON^{3*}, Olivier BARIS^{1*}

¹Univ Angers, [CHU Angers], Inserm U1083, CNRS UMR6015, MITOVASC, SFR ICAT, 49000 Angers, France

²Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), 75015 Paris, France

³Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, 44093 Nantes, France

claudie.gabillard@univ-angers.fr

Le gène codant pour la protéine TM2D3 est situé sur la région q26.3 du chromosome 15. Il a été montré que la délétion de cette région est associée à des anomalies de morphologie cardiaque, un retard de croissance ainsi qu'un retard mental, suggérant un rôle crucial de la protéine TM2D3 dans le développement. Sa localisation intracellulaire n'est pas encore connue, même si des résultats préliminaires de notre laboratoire indiquent sa présence à la membrane du réticulum endoplasmique (RE). Nous disposons de cellules SNB75 TM2D3_KO ainsi que de fibroblastes de patients portant une mutation à la position 503 (G>A) du gène TM2D3. Ces patients ont un tableau clinique caractérisé par un retard de développement, des cardiopathies ou encore des convulsions. Notre objectif est donc de comprendre le rôle de la protéine de TM2D3 et l'impact de cette mutation sur sa fonctionnalité. Les cellules SNB75 TM2D3_KO présentent une augmentation de la longueur des mitochondries, de la distance RE-mitochondrie, de la masse mitochondriale et de la quantité d'ADN mitochondrial. Les fibroblastes de patients présentent des mitochondries plus longues, une structure des crêtes mitochondriales modifiée et une augmentation de la distance RE-mitochondrie. La réponse au stress du RE est également plus importante dans les cellules TM2D3_KO et les fibroblastes de patients. Nos résultats montrent donc que la protéine TM2D3 pourrait être impliquée dans la réponse du RE au stress et que la mutation Gly168Asp modifie sa fonction. Nous projetons de préciser sa localisation pour mieux comprendre les conséquences observées au niveau de la mitochondrie.



Communication 5

Rôle de la protéine BIN1 et du transport vésiculaire pour le maintien des **tubules T dans l'infarctus myocardique.**

Harmonie Perdreau-Dahl^{1,2}, Sophie Tamareille¹, Aglaé Herbreteau¹, Michael Frisk², Simona Kavaliauskiene², Bernd Thiede², Daniel Henrion¹, Fabrice Prunier¹, William E. Louch²

¹Institut MitoVasc, Equipe CarME, CNRS UMR 6015, INSERM U1083, Université d'Angers, Angers, France

²Institute for Experimental Medical Research (IEMR), Oslo University Hospital and University of Oslo, Oslo, Norway

harmonie.perdreau-dahl@univ-angers.fr

Les cardiopathies ischémiques et en particulier l'infarctus du myocarde (IM) sont aujourd'hui une cause majeure de mortalité et morbidité dans le monde. Leur prévalence croissante porte un lourd fardeau socio-économique, et les stratégies de traitement sont limitées. Privées d'oxygène, les cellules du myocarde (cardiomyocytes) meurent et se dégradent, entraînant un dysfonctionnement de la contraction cardiaque. Les données émergentes de notre groupe indiquent que cette réduction de la contractilité est liée à la dégradation d'un réseau de fines invaginations transversales du sarcolemme, appelé tubules T. En effet, les tubules T sont des structures labiles qui apparaissent au cours du développement, mais qui peuvent être altérées voire disparaître lors de pathologies cardiaques, comme l'IM. Bien que les mécanismes sous-jacents ne soient pas clairs, nos données suggèrent que l'interaction entre la protéine Bridging-Integrator-1 (BIN1) et des lipides spécifiques, appelés phospho-inositides (PI), est impliquée de manière cruciale. Dans ce projet, nous visons à établir que l'homéostasie entre BIN1 et certains PI contrôle précisément le trafic vésiculaire intracellulaire, essentiel à la croissance et à la maintenance des tubules T. Pour cela, nous avons établi un « interactome des tubules T » et étudié la composition lipidique des tubules T. Nous travaillons également à l'identification des principaux régulateurs de PI altérés dans un modèle murin d'IM, et examinons comment ceux-ci sont liés aux changements du trafic vésiculaire, et donc à la réorganisation des tubules T. Ainsi, ce travail fournira d'importantes nouvelles connaissances à la fois de la physiopathologie et du traitement de l'infarctus du myocarde.

Mots-clés : infarctus myocardique, tubules T, BIN1.



Communication 6

***In vitro* study of the effects of mixtures of environmental pollutants on free fatty acid receptor signaling: FFAR1.**

Coquereau Louise¹, Mouawad Charbel¹, Rudelle H el ene¹, Gourdin Louis^{1,3}, Fassot C eline¹, Rodien Patrice^{1,2,3}, Munier Mathilde^{1,2,3}

¹Unit  MitoVasc, Cnrs 6015-Inserm 1083,  quipe Carme, Université Angers

²Service EDN, CHU d'Angers

³Centre de Référence des Maladies Rares de la Thyroïde et des Récepteurs Hormonaux, CHU d'Angers

louise.coquereau@univ-angers.fr

Epidemiological studies have shown a positive correlation between the type 2 diabetes (T2D) and exposure to endocrine-disrupting chemicals (EDC) such as plastic additives (BPA or DEHP) or pesticides (DDE). Previously, we show that individually these chemicals alter the free fatty acid receptor 1 (FFAR1) activity. FFAR1 is Gq protein coupled receptor that controls the glucose-dependent insulin secretion and is a therapeutic target in T2D. BPA and DDE reduce by 25%, Gq signaling induced by GW9508 (synthetic agonist) and DEHP induces a rise of 30%. BPA has no effect on the Gq pathway in the presence of linoleic acid (endogenous agonist), while DEHP and DDE reduce it by 25% each. From a review of biomonitoring data over the past 5 years, we defined 5 mixtures representative of the mean concentrations of BPA, DDE, DEHP found in the blood or the urines of the general population as well as of T2D or obese patients. We verified the absence of cytotoxic effect of mixtures with a MTT assay. Analysis of the effects of these mixtures on Gq signaling associated with FFAR1 is underway on HEK293T cells transiently transfected with the coding sequence for human FFAR1. The mobilization of the Gq pathway is estimated by measuring the intracellular calcium concentration using a fluorimetric calcium sensor. From these results, it will be possible to define the concentrations responsible for the alteration of FFAR1 signaling. These results suggest an action of EDCs on a receptor involved in the T2D, at concentrations found in human.

Mots-clés : endocrine-disrupting chemicals mixture, G protein coupled receptor, type 2 diabetes.



Communications affichées

- P1. Marie Béquin** (*CRCI2NA*)
- P2. Maël Bouillon** (*CRCI2NA*)
- P3. Clarisse Carvalho** (*IRF*)
- P4. Enzo Clément** (*IRF*)
- P5. Claire Colombel Le Faou** (*MITOVASC*)
- P6. Malory Couchot** (*RMeS*)
- P7. Flavien Delaporte** (*MINT, CHU Angers*)
- P8. Jade Dron** (*MITOVASC*)
- P9. Dorra Elhaj Mahmoud** (*IRF*)
- P10. Valentine Ghesquière** (*Institut du Thorax*)
- P11. Mélina Guérin** (*MINT*)
- P12. Kim-Nghi Hoang** (*MINT*)
- P13. Hanane Hounkponou** (*HIFIH*)
- P14. Diane Lechevalier** (*MINT, CHU Angers*)
- P15. Clara Rapenne** (*MITOVASC*)
- P16. Marion Sicot** (*MINT*)
- P17. Pauline Teixeira** (*MITOVASC*)
- P18. Théophile Thibault** (*MITOVASC*)
- P19. Léa Tuifua** (*MITOVASC*)



Poster 1

Impact fonctionnel des variants non-codants de la région 5'UTR du gène TP53.

Marie Béquin^{1,2*} ; Luisa Vergori^{1,2*} ; Milon Vincent^{1,2} ; Jonathan Dauvé^{1,2} ; Mathilde Fourgeaud^{1,2} ; Fida Khater^{1,2} ; Louise-Marie Chevalier^{1,2} ; Gaëlle Bougeard-Denoyelle³ ; Yves Delneste¹ ; Alain Morel^{1,2} ; Isabelle Tournier^{1,2}

**Contribution égale*

¹Univ Angers, UMR Inserm 1307 – CNRS 6075, CRCI2NA, Equipe 4 « Immunité Innée et Cancer », Angers

²Unité de Génomique Fonctionnelle, Institut de Cancérologie de l'Ouest, Angers

³Univ Rouen, UMR Inserm 1245 et Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rouen, Rouen

marie.bequin@etud.univ-angers.fr

TP53 est un gène suppresseur de tumeur qui code pour la protéine p53. En réponse à divers stress, la protéine p53 active la transcription de gènes cibles impliqués dans la régulation de l'apoptose, du cycle cellulaire, de la sénescence ou de la réparation de l'ADN. Les mutations somatiques de p53 représentent les altérations les plus fréquentes parmi les cancers humains. Les mutations constitutionnelles de TP53 sont également responsables du syndrome de Li-Fraumeni, un syndrome de prédisposition génétique au cancer. Il est aujourd'hui essentiel de pouvoir interpréter biologiquement l'ensemble des variants somatiques ou constitutionnels détectés dans ce gène. L'interprétation fonctionnelle des variants constitue un réel défi du fait de la grande variabilité interindividuelle du génome humain. Cette interprétation est d'autant plus compliquée pour les variants des régions non-codantes des gènes comme les régions transcrites mais non traduites en 5' ou en 3'UTR qui restent peu explorées. Des variants de ces régions peuvent pourtant impacter la stabilité de l'ARN, sa localisation ou l'efficacité de sa traduction. Pour ce projet nous avons sélectionné 28 variants du 5'UTR du gène TP53 détectés dans les tumeurs de patients traités au sein de l'ICO ou détectés chez des patients pour lesquels un syndrome LFS est suspecté. Afin d'étudier l'impact fonctionnel des variants, nous avons mis en place une stratégie basée sur la prédiction de l'impact des variants par des outils in silico évaluant le repliement des ARN (structure 2D) ; et sur l'analyse des variants dans un test fonctionnel ciblé basé sur un système rapporteur luciférase.

Mots clés : TP53, variants, UTRs.



Poster 2

Caractérisation et ciblage par ARNi de gènes de fusion dans les glioblastomes IDH non mutés.

BOUILLON Maël, BASSET Laetitia, AVRIL Sylvie, ROY Charlotte, GARCION Emmanuel et ROUSSEAU Audrey

*Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Intégrée Nantes-Angers (CRCI2NA)
- Equipe 5 - GLIAD*

mael.bouillon@univ-angers.fr

Le glioblastome IDH non muté (GB) est la forme la plus fréquente et agressive de gliome diffus de l'adulte, à ce jour incurable. Il est caractérisé par une instabilité génomique marquée, parfois en lien avec une chromothripsie (CT). La CT correspond à la pulvérisation massive en un seul temps de chromosomes pouvant aboutir à l'apparition de gènes de fusion potentiellement oncogéniques. Bien que le ciblage des gènes de fusion par des inhibiteurs chimiques montre des résultats prometteurs dans certains cancers, les réponses thérapeutiques obtenues dans les GB restent insuffisantes. L'objectif du travail est de cibler par ARN interférence (ARNi) un gène de fusion potentiellement oncogénique impliquant ROS1, identifié par séquençage des ARN totaux dans une cohorte de GB IDH non mutés présentant une CT. La lignée de GB humain U87MG a été transfectée par des constructions virales afin de surexprimer le gène de fusion ROS1. Nous avons conçus 2 siARN ciblant le point de fusion des deux gènes partenaires et avons mesuré la déplétion en ARNm par RT-PCR et en protéine par immunoblotting. L'incorporation d'un Celltracer et un marquage au BrdU ont permis d'étudier le cycle cellulaire dans la lignée transduite. Résultats : La transduction du gène de fusion ROS1 augmente la prolifération des cellules tumorales *in vitro* via la phosphorylation constitutive de la protéine chimérique. L'administration de siARN spécifiques de la fusion diminue l'expression à la fois du gène chimérique et de la protéine phosphorylée limitant la prolifération des cellules tumorales. Le ciblage par ARNi d'un gène de fusion ROS1 dans une lignée humaine de GB diminue l'expression du gène et de la protéine chimériques et freine la prolifération cellulaire. Cette approche innovante pourrait contrôler la croissance et la progression tumorale, tout en épargnant les cellules saines dans les tumeurs porteuses de fusion oncogéniques.

Mots-clés : glioblastome, gènes de fusion, ARNi.



Poster 3

Rôle des thiorédoxine réductases TrxR1 et TrxR2 dans la pathogénèse des infections à *Scedosporium apiospermum*.

Clarisse Carvalho, Anaïs Herivaux, Jean-Philippe Bouchara

Infections Respiratoires Fongiques – Université d'Angers, Université de Brest – France

clarisse.carvalhon@univ-angers.fr

Au cours de la mucoviscidose, l'épaississement du mucus bronchique et les altérations de la clairance muco-ciliaire résultant de la mutation du gène CFTR permettent le piégeage des microorganismes inhalés, avec pour conséquence des infections pulmonaires qui constituent la cause majeure de morbidité et de mortalité. Les *Scedosporium* se situent au deuxième rang parmi les champignons filamenteux en cause, et leur éradication est difficile du fait de leur faible sensibilité aux antifongiques. Une meilleure compréhension de la pathogénèse des scédosporioses pourrait fournir de nouvelles pistes pour améliorer le traitement de ces infections et la qualité de vie des patients. Dans ce contexte, notre projet vise à caractériser les thiorédoxine réductases 1 et 2 (TrxR1 et TrxR2). Ces enzymes joueraient un rôle important dans la protection du champignon contre le stress oxydatif. De plus, les gènes correspondants font partie de clusters impliqués dans la synthèse de peptides non ribosomiques (NRP) régulièrement associés à la virulence. La génération de mutants TRXR1 Δ , TRXR2 Δ et NRPS1828 Δ , NRPS10275 Δ , grâce à la technologie CRISPR-Cas9, et leur comparaison à la souche parentale, nous permettra de démontrer le rôle des thiorédoxine réductases dans l'échappement de *S. apiospermum* aux mécanismes de défense de l'hôte ainsi que d'identifier les métabolites secondaires produits par les clusters de gènes correspondants. Enfin, la comparaison de ces différents mutants nous permettra de conclure sur une fonction directe, via la régénération de la thiorédoxine, ou indirecte, via la production de métabolites, des thiorédoxine réductases.



Poster 4

Caractérisation de métabolites secondaires issus du pathogène fongique *Scedosporium apiospermum*.

Clément E.¹, Lautram N.², Dallerac D.², Papon N.¹, Bouchara JP.¹, Landreau A.¹

¹Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

²Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

Dans le contexte de la mucoviscidose, les espèces du genre *Scedosporium* sont fréquemment isolées des expectorations de patients en se situant au deuxième rang parmi les champignons filamenteux colonisant leurs voies respiratoires, après *Aspergillus fumigatus*. Ces champignons sont particulièrement redoutés car ils peuvent engendrer des infections disséminées en cas de déficit immunitaire et sont très peu sensibles aux antifongiques actuels. Ainsi, l'unité de recherche Infections Respiratoires Fongiques s'intéresse à l'amélioration des méthodes diagnostiques de ces infections, et des mécanismes pathogéniques développés par ces espèces, notamment la production de métabolites secondaires aux propriétés immunomodulatrices. C'est dans ce dernier objectif que s'inscrit ce projet qui consiste à identifier les métabolites secondaires produits par *S. apiospermum* dans des conditions environnementales mimant celles qu'ils rencontrent dans le mucus bronchique très épais et visqueux qui caractérise la mucoviscidose. Le travail a consisté en une étape de mise en culture *ad hoc* du champignon, puis en l'obtention d'extraits fongiques par extraction liquide/liquide, suivie d'une analyse métabolomique non ciblée par HPLC/MS/MS associée à l'évaluation des propriétés biologiques *in vitro* de ces extraits (évaluation de l'activité anti-oxydante avec le DPPH et test de cytotoxicité). Les résultats montrent que l'extrait issu d'une culture du champignon à base de tryptophane présente une activité antioxydante comparable à celle de l'acide ascorbique utilisé comme contrôle. Cet extrait a donc été retenu pour identification de ses constituants après fractionnement chromatographique.



Poster 5

Rôle de l'innervation dans le cancer bronchopulmonaire.

Claire Colombel Le Faou¹, Manon Varniere¹, Louis Gourdin¹, Sylvain Recoquillon¹, Chadi Abbara², Marie Briet^{1,2}, Flavien Bessaguet¹

¹MitoVasc, équipe CarMe UMR INSERM U1083 – CNRS 6015, 3 rue Roger Amsler 49100 ANGERS

²Service de Pharmacologie-Toxicologie, CHU Angers, 4 rue Larrey 49933 ANGERS cedex 9

claire.colombellefaou@univ-angers.fr

Le cancer bronchique est un des cancers solides le plus fréquent associé généralement à un mauvais pronostic. En effet, en dépit de l'amélioration constante de la prise en charge, une partie des patients se retrouvent en impasse thérapeutique notamment parce que les cellules du microenvironnement tumoral participent aux processus cancéreux et de chimiorésistance. Récemment, une innervation des tumeurs a été mise en évidence qui favorise la croissance et la dissémination tumorale. Ce nouvel acteur du microenvironnement a été repéré dans le cadre du cancer bronchique et est associé à un mauvais pronostic. Néanmoins, les mécanismes spécifiques médiés par cette innervation restent largement méconnus et particulièrement dans le cas des cancers bronchiques. L'objectif de ce travail de Master 2 a été d'évaluer l'impact de l'innervation sur la viabilité cellulaire, la migration cellulaire et la réponse aux agents anticancéreux et de tester un panel de molécules ciblant le système nerveux dans le but de développer de nouvelles thérapies innovantes. Les neuromédiateurs testés (noradrénaline, acétylcholine, substance P et calcitonin gene-related peptide) augmentent significativement la viabilité et la migration cellulaire particulièrement à faible dose. Un traitement à la substance P a diminué drastiquement la réponse pharmacologique particulièrement des cellules tumorales humaines. Ces résultats encouragent l'évaluation plus approfondie du rôle de l'innervation dans les processus cancéreux dans le but de développer de futures thérapies innovantes. Nous envisageons à l'avenir de mettre en place un modèle de co-culture neurones-cellules tumorales et d'étudier la communication entre ces deux types cellulaires notamment via les vésicules extracellulaires.

Mots-clés : cancer bronchopulmonaire, innervation, pharmacologie.



Poster 6

Impact of bariatric surgery in bone metabolism.

Malory Couchot¹, Françoise Schimtt², Céline Fassot³, Guillaume Mabillean¹

¹Univ Angers, Nantes Université, ONIRIS, Inserm UMR_S 1229 "Regenerative Medicine & Skeleton", F-49000, Angers, France

²Univ Angers, UPRES EA 3859 - HIFIH, F-49000, Angers, France

³Univ Angers, Inserm UMR_U1083-CNRS 6015 CARME, F-49000, Angers, France

malory.couchot@univ-angers.fr

Sleeve gastrectomy (SG) is an effective treatment for obesity mostly performed in young women of childbearing age. However, there is now a growing body of evidence that bariatric surgery leads to a higher fracture risk although the mechanisms remain to be elucidated. The goals of this study were to assess whether bone loss following pregnancy and lactation were reversible after SG, and to better understand the determinants of bone fragility after SG. Sixteen Sprague-Dawley females aged 6-week-old were fed with a high fat high sugar (HFHS) diet for 8 weeks. At 14 weeks of age animals were randomly allocated to sham- (n=8), or SG-operated (n=8). Eight age- and sex-matched Sprague-Dawley rats under normal rodent diet and sham-operated were used as controls (n=8). At 18 weeks of age, all animals were mated with Sprague-Dawley males rats and females were sacrificed at 30 weeks of age. Longitudinal evaluation of bone mineral density was performed at the right tibia proximal metaphysis by *in vivo* microCT at 4 different time. At the time of sacrifice, left tibia was collected for ex vivo experiments, and right tibia for validation of *in vivo* measurements. ANOVA were performed and differences at $p < 0.05$ were considered significant. We evidenced that SG led up to 80% of trabecular bone loss. Physiological bone recovery after pregnancy and lactation was observed in HFHS and normal fed controls but not in SG animals. Further studies in human are required to ascertain whether such phenomenon is occurring.

Mots-clés : obesity, bariatric surgery, bones.



Poster 7

Interactions of lipid nanocapsules with liver cells: an *in vitro* story upon acute and chronic exposure.

Flavien Delaporte^{1,2}, Emilie Roger¹, and Camille Savary¹

¹Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

²CHU Angers, F-49100 Angers, France

flavien.delaporte@chu-angers.fr

Lipid nanocapsules (LNCs), used as nanomedicine, have been developed to enhance drugs bioavailability, modify drug biodistribution, and decrease their side effects on healthy cells (infections and cancer). Literature already confirmed that LNCs possess an important hepatic tropism yet, no one studied the safety of LNCs on liver cells after chronic exposure. Therefore, and regardless of the pathology of interest, it is crucial to better characterize cellular interactions between LNCs and hepatic cells. This work aimed to assess the *in vitro* biocompatibility/toxicity of unloaded LNCs, of 50 and 100 nm, with HepG2 and HepaRG liver cell lines. Internalization of 50 nm LNCs was slower compared to 100 nm LNCs despite their higher toxicity in both cellular models. LNCs seemed to be mainly internalized via caveolin-mediated endocytosis. Chronic exposure increased LNCs' toxicity on HepaRG cells although 100 nm LNCs remained stable comparing lethal concentrations after 2 and 4 weeks of exposure. Cell death wasn't triggered by apoptosis but involved ferroptosis in both cell lines. Overall and despite being blank nanocarriers without any targeting groups, HepG2 cancerous cells were much more sensitive to LNCs than differentiated HepaRG cells. Analysis were performed after a standard acute exposure, and also after repeated exposure on HepaRG cells: representing for the first time an investigation of LNCs with liver cells after a chronic 4 weeks of exposure *in vitro*.

Mots-clés : lipid nanocapsules; liver; repeated exposure



Poster 8

Role of mitochondrial DNA in inflammation and post-infarction cardiac remodeling.

Jade DRON¹ ; Tom BOURCIER¹ ; Aglaé HERBRETEAU¹ ; Fabrice PRUNIER¹ ; Jeanne MIALET-PEREZ²; Sophie TAMAREILLE¹

¹MitoVasc Équipe CarMe (Cardiovascular Pathophysiology)

²MitoVasc Équipe MitoLab (Mitochondrial Pathophysiology)

jade.dron@etud.univ-angers.fr

Myocardial infarction (MI) is currently one of the leading causes of death worldwide. The death of cardiomyocytes within the ischemic zone releases endogenous danger signals (DAMPs) that will overstimulate several innate immunities signaling pathways and thus trigger a severe inflammatory response, exacerbating myocardial damage and leading to the decline of cardiac function. Among DAMPs, mitochondrial DNA (mtDNA) has been identified as a determinant of the inflammatory response. However, its role in myocardial ischemia-reperfusion lesions is unclear and we are trying to characterize it. We first worked on a model of ventricular cardiomyocytes of rats exposed to either hypoxia/reoxygenation or purified mtDNA or total DNA. Cell mortality was assessed by trypan blue staining and viability by MTT test. Exogenous mtDNA significantly reduces viability and mortality is increased after exposure to fragmented mtDNA. Total DNA has no deleterious effect. NLRP3 inflammasome (mRNA) expression was increased following exposure to fragmented mtDNA. *In vivo*, a 40-minute coronary artery ligation was performed in rats, followed by 3 hours of reperfusion. Circulating mtDNA was significantly increased after reperfusion. Our results suggest that circulating mtDNA released after an MI may have deleterious effects by aggravating ischemia/reperfusion lesions via activation of the NLRP3 inflammasome and would be involved in the mechanisms responsible for activating the inflammatory response in the infarcted heart. The project is currently continuing with the implementation of mtDNA release kinetics in rats, at different reperfusion times, but also in humans since we are undertaking our research on a prospective cohort of patients treated for MI.

Mots-clés : ADN mitochondrial, ischémie-reperfusion, inflammation.



Poster 9

Functional insights into the M1 macrophage immune response against *Scedosporium* species.

Dorra Elhaj Mahmoud¹, Mariem Hanachi², Simon Blanchard³, Pascale Pignon³, Hajar Yaakoub¹, Yves Delneste³, Nicolas Papon¹, Anaïs Hérivaux¹

¹Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, 49000, Angers, France.

²Laboratory of Bioinformatics, Biomathematics and Biostatistics-LR16IPT09, Pasteur Institute, Tunis, Tunisia.

³University of Angers, Nantes Université, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

dorra.hadjmahmoud@univ-angers.fr

Patients with cystic fibrosis (CF) are at high risk of developing chronic airway colonization by *Scedosporium* species. While *S. apiospermum* is one of the major species encountered in the lungs of CF patients, *S. dehoogii* has never been reported yet. In this context, we undertook a comparative investigation of the M1 macrophage-mediated immune response toward *S. apiospermum* and *S. dehoogii* conidia. M1 macrophages from healthy donors were incubated with *S. apiospermum* or *S. dehoogii* conidia for 3h and 24h. Quantitative PCR and Luminex assays were used to evaluate cytokine production. For macrophage-mediated killing activity, a flow cytometry based-protocol was developed. Our data showed that *S. apiospermum* and *S. dehoogii* conidia strongly stimulated the expression of a set of pro-inflammatory cytokines and chemokines such as IL1 α , IL1 β , IL8 and CCL5. We demonstrated that *S. dehoogii* tended to be more potent to stimulate the early release of pro-inflammatory cytokines and chemokines while *S. apiospermum* induced at a higher level the late inflammatory response. Our flow cytometry based-protocol showed that macrophages were able to internalize both *S. apiospermum* and *S. dehoogii* conidia. The macrophage-mediated killing rates were obviously similar for both species. Our study showed that M1 macrophages can rapidly initiate a host defense response against both *S. apiospermum* and *S. dehoogii*. This response is characterized by a similar killing efficiency of internalized conidia and a distinct time course of in-vitro cytokine production.

Mots-clés : *Scedosporium*, macrophages, inflammation.



Poster 10

Complications métaboliques et obésité : rôle des lipides associés aux vésicules extracellulaires.

Valentine Ghesquière^{1,2}, Josy-Anne Froger^{1,2}, Mikaël Croyal^{1,3}, Lionel Fizanne⁴, Grégory Hilairet², Jérôme Boursier^{4,5}, Samy Hadjhadj^{1,3}, Bertrand Cariou¹, Soazig Le Lay^{1,2}

¹L'Institut du thorax, INSERM U1087, Equipe IV, Groupe EV-Link, Nantes, France

²SFR ICAT, Groupe dysmétabolique angevin, University of Angers, F-49000 Angers

³Mass Spectrometry Core Facility (CRNH-O), Nantes

⁴HIF1H Laboratory, EA 3859, University of Angers, Angers

⁵Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers

valentine.ghesquiere@etu.univ-nantes.fr

Les vésicules extracellulaires (VEs) sont des nanovésicules dérivées des membranes cellulaires, actrices de la communication intercellulaire, capable de transférer, à des cellules cibles, du matériel biologique issu de la cellule d'origine. Les sujets obèses présentent une élévation significative des VEs plasmatiques circulantes corrélant avec indice de masse corporelle et degré de résistance à l'insuline, suggérant la participation des VEs adipeuses au développement des complications cardiométaboliques à l'image du diabète de type II (DT2). Les nombreuses études dédiées à la caractérisation des VEs ont porté sur leur contenu génomique ou protéique, négligeant leur composante lipidique. Nos précédents travaux ont révélé une altération du phospholipidome membranaire de VE adipeuses murines se caractérisant par un enrichissement en phospholipides mitochondriaux, sphingolipides (associés au développement du DT2) et en espèces lipidiques pro-inflammatoires. Ces lipides vésiculaires pourraient donc constituer des médiateurs lipidiques de la dysfonction mitochondriale, l'insulino-résistance ou l'inflammation chronique de bas-grade associée à l'obésité. Notre objectif est de réaliser le profilage lipidique de VE plasmatiques humaines isolées de patients souffrant de syndrome métabolique (Cohorte Metabol) et d'étudier l'impact de la chirurgie bariatrique sur le profil lipidique vésiculaire (Cohorte NBC). Pour cela nous avons mis au point une technique d'isolation de VE à partir de plasma combinant chromatographie d'exclusion de taille (SEC) et gradient de densité. Nos analyses associant le lipidome des VE plasmatiques et les données cliniques des patients permettront de conclure quant à la valeur diagnostic/pronostic des lipides vésiculaires dans le développement des complications cardiométaboliques associées à l'obésité.

Mots-clés : obésité, vésicules extracellulaires, lipides.



Poster 11

Nanomedicines via the pulmonary route: a promising strategy to reach the target?

Melina Guérin* and Elise Lepeltier

Micro et Nanomédecines Translationnelles – Université d'Angers, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut de Chimie du CNRS, Centre National de la Recherche Scientifique – France

Whether it be infectiology, ophthalmology or oncology, research on nanomedicines as new tools to _ght complex pathologies has increased tenfold in many disciplines in decades. This process has further accelerated since the introduction of the Covid19 vaccines. According to the International Organization of Standardization, a nanoparticle is a "nano-object with all external dimensions in the nanoscale where the lengths of the longest and the shortest axes of the nano-object do not differ significantly". When it comes to human health, nano-objects are designed to protect, transport and improve the solubility of compounds in order to allow the delivery of an active ingredient with biological activity on its target. In this case, the nano-objects are called nanodrugs and can be administered by di_ erent routes, such as oral, intravenous or pulmonary. In the latter route, nanodrugs can be aerosolized or nebulized to reach the deep lung This poster summarizes the existing nanomedicines that can be administered via this route, from their synthesis to medical interest, including the organs they can reach and the pathologies - infections, genetic diseases, cancer - that they could treat in the near future.



Poster 12

NANOSMO : design of nanosystems for cellular osmotic disruption.

Kim-Nghi HOANG & Laurent LEMAIRE

MINT, INSERM U1066- CNRS 6021- Université Angers, CHU -IBS 4 rue Larrey, 49933 Angers, France

kimnghi.hoang@etud.univ-angers.fr

The objective of this work is to explore a new cancer therapeutic approach based on the design and delivery of high salt concentrations to induce osmotic shock. For this purpose, controlled and reproducible nanosized crystals using microfluidic approach must be produced and loaded in well-known established polymeric and/or lipidic nanocarriers. Home-designed microfluidic devices were produced and tested for nanocrystal synthesis using an anti-solvent approach. For this purpose, a highly concentrated NaCl aqueous solution was mixed with an ethanol refocusing phase. The crystals size was measured using Dynamic Light Scattering and/or Transmission Electron Microscopy. Crystals were coated with oleic acid and oleylamine to be loaded in polymeric particles using an emulsification/solvent evaporation approach or loaded in lipid nanocapsules using a phase inversion in temperature approach. Crystals with sizes ranging from 3 to 75nm were obtained using the microfluidic anti-solvent approach. Stable and oleic acid/oleylamine coated ~20 nm crystals were produced. Loading in polymeric and/or lipidic is under process.

Mots-clés : nano crystallization, osmotic shock.



Poster 13

Rôle des vésicules extracellulaires bactériennes dans le développement et la sévérité des pathologies hépatiques dysmétaboliques.

Hanane Hounkponou^{1,3}, Lionel Fizanne^{1,3}, Soazig Le Lay², Hélène Pailhoriès^{1,3}, Jérôme Boursier^{1,3,4}

¹Laboratoire HIFIH, Université d'Angers, Angers

²L'institut du thorax, INSERM U1087, Equipe IV, Groupe EV-Link, Nantes.

³SFR ICAT, Institut de Biologie en Santé, Université d'Angers, Angers

⁴Service d'Hépatogastro-Entérologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers

hanane.hounkponou@etud.univ-angers.fr

La stéatohépatite non alcoolique (Non-Alcoholic SteatoHepatitis, NASH) est la manifestation hépatique du syndrome métabolique, se caractérisant par l'association des trois lésions suivantes : stéatose, inflammation lobulaire et ballonnisation hépatocytaire. La NASH favorise l'évolution vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire par l'accumulation de fibrose hépatique. Cette pathologie est présente chez 7% de la population mondiale. Si sa physiopathologie reste mal définie, le microbiote intestinal semble toutefois jouer un rôle majeur dans son évolution, notamment par une action pro-inflammatoire en lien avec la présence d'une dysbiose et d'une translocation bactérienne. Un des acteurs possibles de ces effets pourrait être les vésicules extra-cellulaires (B-VEs) produites par les bactéries. Actrices de la communication intercellulaire, les B-VEs interviennent dans l'altération de la perméabilité intestinale. Nous faisons l'hypothèse d'un rôle direct des B-VEs intestinales au niveau hépatique, favorisant le développement de la NASH. Afin d'évaluer cette hypothèse, nous avons dans un premier temps mis au point une technique d'extraction et de purification des B-VEs de plasma et fèces, en vue de les caractériser. S'appuyant sur des paramètres de taille et de densité, cette technique se compose d'étapes séquentielles d'ultra-filtration et -centrifugation. L'efficacité de cette technique nous permettra d'évaluer dans un second temps par analyse métagénomique de l'ADN 16S, la correspondance entre l'origine des B-VEs et la dysbiose environnante sanguine et intestinale. Afin d'établir un lien avec les caractéristiques cliniques, nous poursuivrons l'analyse sur une cohorte de patients NASH de sévérité variable. L'étude sera complétée par des évaluations fonctionnelles de B-VEs *in vitro* et *in vivo*.

Mots-clés : NASH, microbiote intestinal, vésicules extracellulaires.



Poster 14

Role of SPARC protein in melanoma treatment resistance: Optimization of single and multi-cell spheroids combining tumor and endothelial cells.

Diane Lechevalier^{1,2*}, Ezechiél Romone^{1*}, Adriana Vrobelova^{1,3}, Catherine Guette⁴, Valérie Prouzet-Mauléon⁵, Yannick Le Corre², Ludovic Martin², Nicolas Clere¹

¹Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers

²Dermatology department, University Hospital, Angers

³Faculty of Pharmacy, Charles University, Praha (Czech Republic)

⁴Univ Angers, Nantes Université, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000 Angers

⁵TBMcore CNRS UAR 3427 – INSERM US005, Bordeaux University, Bordeaux

diane.lechevalier@univ-angers.fr

Despite new therapies, metastatic melanoma remains a public health problem because of its high mortality. This can be explained by the acquisition of therapy resistance. These last combine specific mechanisms of cancer cells and the interaction with tumor microenvironment. Thus, endothelial cells are involved in the endothelial-mesenchymal transition (EndMT) that favors both the formation of cancer-associated fibroblasts and chemoresistance. Recently, we identified SPARC protein as a key mediator to control EndMT. Our project aims to develop spheroid models to predict the anticancer therapy response by taking into account the endothelial microenvironment. SPARC^{-/-} SK-MEL28 melanoma cells were obtained by CRISPR-Cas9. Single and multi-cell spheroids were generated from SPARC^{+/+} or SPARC^{-/-} SK-MEL28 and HUVEC. Different amounts of cells and different times of spheroid formation were considered. Cell proliferation was determined by Cyquant® while cell viability was measured by Cell TiterGlo®. SPARC level was measured by ELISA. The average SPARC level in conditioned media is 150 ng/mL and 350 ng/mL after 24h and 72h of incubation. This level is null for media from SPARC^{-/-} SK-MEL28. For single-cell spheroids, cell viability and proliferation increased in proportion to the number of cells and with time. Differences in volume were observed between spheroids obtained from SPARC WT and KO cells. The volumes of multicellular spheroids did not increase significantly over time suggesting that endothelial cells did not influence the growth of spheroids. These first results confirm the conditions for the optimization of spheroids which can be used as models to evaluate the response to treatments.

Mots-clés : melanoma, SPARC, tumor spheroids.



Poster 15

Evaluation de la cardiotoxicité de nanoparticules contenant de l'amiodarone pour cibler le myocarde et traiter l'arythmie cardiaque.

Clara Rapenne¹, Pauline Le Roch², Jaspe Chen², Daniel Henrion¹, Patrick Saulnier², Emilie Martinez², Guillaume Lefebvre², Sophie Tamareille¹

¹MitoVasc – Equipe CarMe (Cardiovascular Pathophysiology)

²Micro et Nanomédecines Translationnelles (MINT)

clrapenne@etud.univ-angers.fr

Parmi les troubles du rythme cardiaque, la plus fréquente, la fibrillation auriculaire, est une arythmie supra-ventriculaire qui se traduit par une augmentation importante du rythme de contraction des oreillettes. Les antiarythmiques sont les seuls traitements pharmacologiques permettant de diminuer l'excitabilité et la conduction du myocarde. L'amiodarone (AMD), un antiarythmique de classe III, allonge la durée de repolarisation ventriculaire et ainsi prolonge la période réfractaire. C'est le plus efficace des antiarythmiques mais aussi le plus toxique provoquant à des doses élevées de nombreux effets secondaires. Les nanomédecines constituent d'éventuels systèmes de délivrance de principes actifs. Dans le cas de l'AMD, les nanocapsules lipidiques (NCL) représentent des vecteurs pour cibler spécifiquement le coeur et ainsi potentiellement protéger l'AMD, réduire ses effets indésirables, et augmenter sa biodisponibilité, permettant de diminuer les doses thérapeutiques. Ce projet a pour objectif de formuler des NCL-AMD, de les purifier par filtration tangentielle, permettant d'obtenir des NCL-AMD 50 et 100 nm sans micelle, et d'évaluer leur toxicité *in vitro* et *ex vivo*. La cytotoxicité des NCL-AMD a été évaluée sur la lignée cellulaire de cardiomyoblastes de rat H9C2 par un test de viabilité au MTT montrant l'activité métabolique. Parallèlement la cardiotoxicité des NCL-AMD a été évaluée *ex vivo* sur un modèle de coeur isolé perfusé de rat selon la technique de Langendorff. Les effets des NCL-AMD purifiées et de l'AMD sur la fonction cardiaque ont été comparées. Les premiers résultats *ex vivo* ont montré que les NCL-AMD 50 nm n'avaient pas d'effet délétère sur la fonction cardiaque.

Mots clés : fibrillation auriculaire, amiodarone, nanoparticules lipidiques.



Poster 16

Ursolic acid nanoprecipitates in the resensitization of TMZ-resistant glioblastoma cells.

Marion Sicot¹, Alma Athenas Sánchez-Téllez¹, Patrick Saulnier¹, Guillaume Bastiat¹

¹MiCro et Nanomédecines Translationnelles (MINT), Université d'Angers, France

marion.sicot@univ-angers.fr

Glioblastoma (GBM) patients are treated according to the Stupp protocol, consisting of a tumor resection, radio and chemotherapy using temozolomide (TMZ). One of the causes for treatment resistance is the expression of O6-methylguanine-DNA-methyltransferase (MGMT). MGMT is involved in a mismatch repair pathway: it removes alkyl groups from DNA protecting and repairing it (1). However, the pharmacological action of TMZ: an alkylating agent, is to add methyl groups to DNA to kill tumor cells. TMZ action is thus inhibited by MGMT, a big issue because half of GBM patients overexpress MGMT (2). The aim of this study is therefore to inhibit the expression of MGMT to restore TMZ sensitivity. Ursolic acid (UA) has been studied in human GBM cells and was able to resensitize TMZ-resistant cells by inhibiting MGMT expression (3). Here, UA nanoprecipitates (NPs) were formulated using an antisolvent precipitation method to obtain UA NPs around 200nm and a low polydispersity (PdI around 0.2). Förster Resonance Energy Transfer inducing dyes were loaded in the NPs to allow their tracking, the NPs were internalized in T98G cells after 6h (Fig. 1A) and degraded in cellulo after 48h post-treatment. The efficacy of the NPs to resensitize the GBM cells to TMZ has then been studied on GBM cells overexpressing (T98G) or not (U87-MG) MGMT. T98G cells had a lower MGMT expression after treatment with the NPs compared with the unimolecular UA, leading to a more efficient resensitization to TMZ, (Fig. 1B). These preliminary results seem promising to resensitize the TMZ-resistant GBM cells.

Mots-clés : glioblastoma, ursolic acid, temozolomide.



Poster 17

Organisation mitochondriale et qualité spermatique.

Pauline Teixeira, Magalie Boguenet, Pascal Reynier, Arnaud Chevrollier, Pascale May-Panloup

MitoVasc, équipe MitoLab, UMR CNRS 6015, INSERM U1083, Université d'Angers

pauline.teixeira@univ-angers.fr

En France, l'infertilité concerne près d'un couple sur 6 ce qui en fait un véritable enjeu de santé publique. Les causes de l'infertilité sont multiples mais les facteurs sous-tendant la qualité gamétique sont encore mal compris. Les mitochondries, les centrales énergétiques cellulaires, seraient impliquées dans l'infertilité masculine, soit par le biais d'une altération des paramètres spermatiques, soit d'une incapacité du spermatozoïde à féconder. Les mitochondries ont la particularité de posséder leur propre génome, l'ADN mitochondrial (ADNmt), organisé en un complexe d'acide nucléoprotéique appelé nucléoïde. La distribution mitochondriale des nucléoïdes peut être étudiée par microscopie de fluorescence, notamment par microscopie de fluorescence à réflexion interne totale (TIRF) ou plus récemment, par super résolution (SR), dSTORM (direct stochastic optical reconstruction microscopy). Grâce au dSTORM, il est possible d'atteindre une résolution de 15-20 nm dans l'axe x-y et 50 nm en z permettant d'analyser les relations entre le contenu en ADNmt et la morphologie des mitochondries. Nous avons ainsi analysé les nucléoïdes de spermatozoïdes avec une morphologie normale et anormale. Nos résultats montrent un plus grand nombre de nucléoïdes dans les spermatozoïdes anormaux comparés aux normaux et l'approche par dSTORM a révélé une grande variété de volumes des nucléoïdes. L'augmentation du nombre de nucléoïdes dans les spermatozoïdes de morphologie anormale vient conforter nos résultats de quantification de l'ADNmt par q et sont mettre en perspective avec la non-transmission physiologique de l'ADNmt paternel la descendance.

Mots-clés : infertilité masculine, mitochondrie, ADN mitochondrial.



Poster 18

Impact des contrôles-qualité de l'ADN mitochondrial sur son instabilité au cours du vieillissement cardiaque.

Théophile THIBAULT, Guy LENAERS, Olivier BARIS

UMR CNRS 6015, UMR INSERM 1083, institut Mitovasc, Angers, France

Les maladies cardiovasculaires sont la 1^{ère} cause de mortalité dans monde. Dans les tissus vieillissants et notamment cardiaques, on observe fréquemment une mosaïque formée par quelques cellules dont la fonction mitochondriale est diminuée au sein de nombreuses cellules saines, et qui pourrait jouer un rôle dans le vieillissement pathologique cardiaque. Cette dysfonction résulte de l'instabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt), qui subit de nombreuses délétions au cours du vieillissement. L'étude vise à déterminer l'impact de la dynamique mitochondriale et de l'autophagie sur l'instabilité de l'ADNmt en utilisant notre modèle murin de vieillissement mitochondrial accéléré TWNK, dont l'hélicase de l'ADNmt est mutée et cause l'accumulation accélérée de délétions de l'ADNmt. La souris TWNK a d'abord été croisée avec des souris knockout hétérozygotes pour des gènes cruciaux de la dynamique, OPA1delTTAG (fusion) et DRP1+/- (fission). Après validation des modèles par western blot, la proportion de délétions de l'ADNmt et de cellules dysfonctionnelles a été évaluée par qPCR et coloration enzymatique COX/SDH, respectivement. Nous n'avons pas identifié de différences entre les proportions d'ADNmt ou de délétions. Cependant, les souris TWNK-OPA1delTTAG présentent 1,6 fois plus de cardiomyocytes déficients en activité mitochondriale que les souris TWNK, suggérant un rôle protecteur de la fusion dans le vieillissement cardiaque. Nous souhaitons moduler la mitophagie par régime ou traitement pharmacologique chez les souris TWNK afin de déterminer son impact sur l'instabilité de l'ADNmt et la dysfonction des cardiomyocytes. Nous espérons en promouvant le turn-over mitochondrial, induire l'élimination de mitochondries riches en ADNmt altéré.

Mots clés : maladies cardiovasculaires, vieillissement, ADN mitochondrial.



Poster 19

Caractérisation de l'influence de TRPV1mito sur la respiration mitochondriale.

L. Tuifua, F. Beignon, C. Mattei, N. Gueguen & G. Lenaers

UMR CNRS 6015 - INSERM U1083 Unité MITOVASC, Equipe MITOLAB

leatuifua@hotmail.fr

La mitochondrie produit de l'énergie cellulaire à la fois sous forme d'ATP et majoritairement sous forme de chaleur. Cependant, les régulations de la thermogénèse cellulaire par la mitochondrie demeurent peu étudiées, bien que des données récentes indiquent que la température mitochondriale est comprise entre 45-50°C, température pour laquelle l'activité de la chaîne respiratoire est maximale. Afin de mieux comprendre les mécanismes physiologiques de la thermogénèse cellulaire et patho-physiologiques de l'hyperthermie maligne et du coup de chaleur d'exercice, nous avons caractérisé une isoforme du canal TRPV1, acteur moléculaire potentiellement impliqué dans la régulation de la thermogénèse mitochondriale. Il est sensible à des températures élevées (>43°C) et son activité permet de générer des flux de Ca²⁺, important régulateur de la fonction mitochondriale. Après avoir identifié TRPV1mito, un variant présentant une séquence d'adressage mitochondriale, nous nous sommes intéressés à son implication dans la régulation de la respiration mitochondriale. Des cellules HEK293, sur-exprimant TRPV1mito ou non, ont été perméabilisées afin de mesurer la respiration mitochondriale en présence de calcium par oxygraphie, en fonction ou non de l'activation pharmacologique de TRPV1mito. Les résultats indiquent que l'activation pharmacologique de TRPV1mito ne semble pas stimuler davantage la respiration cellulaire. L'exploration de l'activation thermique peut être suggérée.

Mots-clés : mitochondrie, TRPV1, calcium.