

## **Développement d'outils d'analyse spatio-temporel des dynamiques phénotypiques de cellules de cancer du sein**

Mathilde Brulé

Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Centre Oscar Lambret, UMR9020 – UMR1277 - Canther –  
Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies  
Lille France

Les Cellules Souches Cancéreuses (CSC) sont particulièrement résistantes à la chimiothérapie et à la radiothérapie. Une plasticité phénotypique relative a été observée dans certaines cellules cancéreuses non-souches (non-CSC) capables de réacquérir un phénotype CSC sous l'effet de ces traitements. Le laboratoire a récemment découvert que cette reprogrammation de non-CSC en CSC impliquait des cytokines inflammatoires. De plus, les cytokines et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) conduisent à une boucle d'autorégulation entre elles. De manière intéressante, alors que les CSC ont une expression plus élevée des systèmes anti-oxydants qui les rendent résistantes aux ROS produits par les traitements anticancéreux, leur métabolisme mitochondrial entraîne un niveau plus élevé de fuite de protons mitochondriaux que les non-CSC et génère des ROS. Compte tenu des relations étroites entre les cytokines, les ROS et la reprogrammation, ce travail vise à identifier les mécanismes moléculaires qui déterminent l'équilibre redox dans les CSC pour empêcher la reprogrammation et ainsi améliorer l'efficacité des traitements contre le cancer. Les méthodes classiques pour étudier les CSC sont souvent destructives et permettent l'analyse de la population cellulaire à des moments précis. Or, la reprogrammation se produit seulement chez environ 2% de la population cellulaire et de plus, elle est un processus dynamique non synchronisé. Pour mieux comprendre cette reprogrammation et dans le but de la prévenir, nous avons développé un protocole comprenant un système de microscopie et des algorithmes d'analyses d'images pour permettre le suivi dynamique de la reprogrammation de chaque non-CSC en CSC. Ainsi, une cellule individuelle peut être suivie pendant cinq jours dans plusieurs canaux de fluorescence en parallèle. Ces outils nous permettent d'évaluer, avec des systèmes rapporteurs fluorescents, l'état souche, l'état redox et le métabolisme énergétique au niveau d'une seule cellule.

Nous avons généré deux lignées cellulaires de cancer du sein exprimant de manière stable des rapporteurs de l'activité souche, des rapporteurs redox, tels que Grx1roGFP2, des rapporteurs de la glycolyse, tels que Pyronic. De manière intéressante, une analyse temporelle semble indiquer que le moment de la reprogrammation de non-CSC en CSC serait précédé d'une chute brutale du niveau d'oxydation. En parallèle, une analyse spatiale semble montrer que l'organisation en clusters des CSC est perturbée après irradiation et que ces zones représentent l'espace dynamique où les événements de reprogrammation se produisent.

Ces résultats doivent être confirmés à l'aide d'inhibiteurs pharmaceutiques, afin d'inhiber le processus de reprogrammation et d'augmenter l'efficacité des thérapies anticancéreuses.