

## Evaluation du phénotype mécanique de cellules cancéreuses associée à la résistance au traitement dans les leucémies myéloïdes

**Mots clefs :** Microfluidique ; déformabilité ; hétérogénéité ; résistance au traitement ; pronostic ; LAM

**Co-encadrement :** Equipe 1 (E1): INL UMR5270 et Equipe 2 (E2): CRCL UMR5286

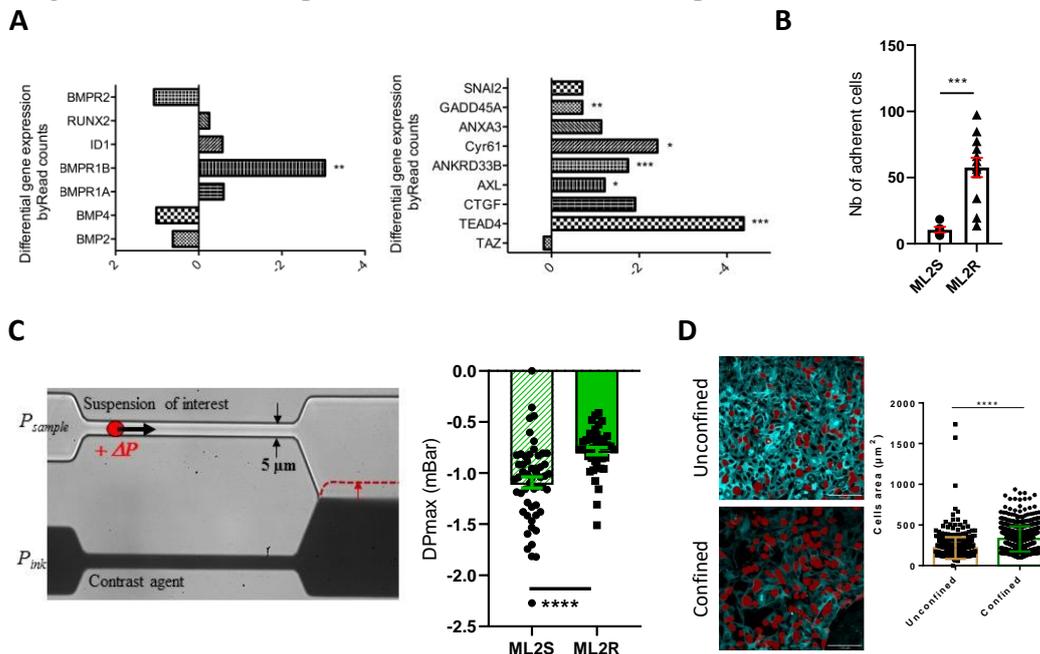
E1 : Magalie Faivre [magalie.faivre@univ-lyon1.fr](mailto:magalie.faivre@univ-lyon1.fr)

tel: +33 (0)4 72 43 16 43

E2 : Sylvain Lefort [sylvain.lefort@lyon.unicancer.fr](mailto:sylvain.lefort@lyon.unicancer.fr)

tel: +33 (0)4 78 78 51 24

**Domaine et contexte scientifiques :** Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont des cancers de type hémopathie maligne affectant les cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse. Les cellules leucémiques - ou blastes - sont caractérisées par une incapacité à se différencier en cellules matures et par une prolifération incontrôlée. Malgré les progrès récents des thérapies, celles-ci reposent essentiellement sur des cycles de chimiothérapies intensifs et la plupart des patients LAM ne sont pas guéris, avec des taux de survie d'environ 20% à 5 ans. Des analyses récentes de E2 ont mises en évidence une augmentation des voies mécanosensibles (BMP et YAP) chez les patients atteints de LAM en rechute (Fig. 1A). De façon intéressante, ces propriétés sont également retrouvées dans des lignées commerciales LAM résistantes aux chimiothérapies (ML2R et OCI-AML3R) par rapports à des lignées sensibles (ML2S et OCI-AML3S) et accompagnées par une augmentation de l'adhésion sur des supports variés (Fig. 1B). De plus de récentes publications ont rapporté que les cellules qui ont migrée de manière confinée présentaient un meilleur taux de survie après exposition à un traitement (chimio et radiothérapie) par rapport à des cellules qui auraient migrée sur un substrat 2D (1). Tous ces éléments démontrent une forte interconnexion des propriétés mécaniques des cellules, de leurs propriétés migratoires et de leur capacité à survivre à la chimiothérapie.



**Objectifs de la thèse :** Dans ce contexte, nous chercherons à étudier cette interaction entre déformabilité, migration confinée et phénomène de résistance au traitement. Les objectifs de cette thèse sont doubles.

Un premier objectif est de comprendre si la modulation des voies mécanosensibles et des mécanismes d'adhésion s'accompagne d'une augmentation de la rigidité intrinsèque des lignées LAM résistantes et ainsi déterminer si les propriétés mécaniques sont à même de prédire une réponse au traitement. Pour cela, nous proposons d'exploiter expérimentalement une approche de microfluidique passive développée par E1, quantifiant la façon dont les cellules obstruent une constriction géométrique dans laquelle elles s'écoulent (Fig. 1C et (2)). Le(la) candidat(e) mesurera la signature mécanique de chaque lignée cellulaire (sensibles et résistantes à différents types de chimiothérapies) à partir de différents observables tels que la vitesse de transit,

l'index de déformation, le temps de retour à l'équilibre et la mesure de chute de pression - paramètre relié au volume et à la déformabilité de la cellule qui traduit la manière dont la cellule obstrue le canal lors de son passage.

Le second objectif est plus fondamental puisqu'il consiste à étudier si la capacité des cellules cancéreuses à développer une résistance à la chimiothérapie après avoir migré de manière confinée - selon une approche co-développée par E2 (Fig. 1D et (3)) - pouvait être corrélée à une modification de leur signature mécanique.

**Contributions originales attendues :** Nous avons identifié 4 avancées scientifiques à plus ou moins long terme associées à ce travail de thèse : (i) Ce travail pourrait être la première étape vers le développement - et le transfert vers nos collaborateurs du CRCL et du CLB - d'un dispositif automatisable pour la caractérisation mécanique de cellules dans le cadre du pronostic du cancer. (ii) Ce travail donnera également l'occasion d'identifier des signatures moléculaires associées aux phénotypes mécaniques de cellules résistantes à la chimiothérapie, afin de permettre de les isoler par des techniques de type cytométrie/FACS. (iii) Il permettra de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques et de suivre l'évolution de la signature mécanique en réponse à ces drogues. (iv) Enfin, cette thèse propose d'élucider si les phénomènes de résistance au traitement proviennent d'une sélection clonale (survie de cellules plus robustes déjà présentes dans la population de départ) ou bien d'une transition de tout ou partie de la population de départ vers un nouveau phénotype.

**Programme de recherche et démarche scientifique proposée :** La thèse consiste à étudier la réponse mécanique de différentes lignées de cellules. Nous allons consacrer la 1<sup>ère</sup> année de thèse à la prise en main du sujet par l'étudiant(e) à travers une étude bibliographique appuyée, ainsi qu'à travers la maîtrise du microsysteme (fabrication des microsystemes et de la caractérisation mécanique des cellules). L'objectif à atteindre à la fin de la première année étant l'obtention des signatures mécaniques de cellules issues de lignées commerciales LAM avant et après exposition à différents types de chimiothérapies classiques (cytarabine et daunorubicine) ou émergentes (vénétoclax et azacitidine). L'objectif de la seconde année sera de valider notre approche sur des échantillons primaires en obtenant la signature mécanique d'échantillons issus de patients (sang et/ou moelle osseuse) prélevés au moment du diagnostic (stockés au CRCL) et de la corrélérer avec la réponse au traitement de ces patients. En parallèle, l'obtention de signatures moléculaires associées au phénotype résistant sera développée durant la deuxième année. La troisième année sera dédiée à la comparaison de la signature mécanique de cellules cancéreuses ayant migré sur un substrat 2D ou de manière confinée avant et après exposition à différentes chimiothérapies. Selon l'avancée des travaux de thèse, différents niveaux de confinement pourront être testés. Enfin, l'étudiant(e) rédigera le manuscrit de thèse.

**Profil du candidat recherché (prérequis) :** Un profil de biophysicien(ne) avec une forte expérience en manipulation biologique ou issu d'un cursus double médecine-recherche est recherché. Cette thèse s'effectuera entre 2 laboratoires l'INL (équipe *Dispositifs pour la santé et l'environnement*) et le CRCL (équipe *BMP, Ecosystème, Cellules Souches & Dynamique du Cancer*). Le(la) candidate bénéficiera des infrastructures technologiques fournies par l'INL (350m<sup>2</sup> salle blanche + 65m<sup>2</sup> de L2 + 250m<sup>2</sup> d'espace de caractérisation) et les plateformes moléculaires présentes au CRCL. Les échantillons biologiques seront fournis par E2. Ce projet interdisciplinaire en oncologie possède une forte composante expérimentale et permettra au (à la) candidat(e) d'acquérir des compétences en micro-nanotechnologies et mécanobiologie.

**Objectifs de valorisation des travaux de recherche :** Avant toute communication dans des conférences ou toute publication, une attention particulière sera payée à la possibilité de breveter les approches développées, ce qui peut être un plus pour le(la) candidat(e) et son insertion dans le monde socio-économique. Le cas échéant, nous prévoyons de valoriser le travail effectué par la participation de l'étudiant(e) à des conférences internationales du domaine et à une ou deux publications dans des revues à hauts facteurs d'impact.

## Bibliographie :

- (1) Shen et al., *Cancer Letters*, 2021, doi : <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.01.020>
- (2) Abkarian et al., *PNAS*, 2006, doi : <https://doi.org/10.1073/pnas.0507171102>
- (3) Prunet et al., *Lab-On-Chip*, 2020, doi : <https://doi.org/10.1039/d0lc00732c>

