

Bourses SFRP

La SFRP a attribué deux bourses à de jeunes étudiants pour leur stage de master 2^e année de recherche. Nous avons le plaisir de publier dans cette rubrique destinée aux jeunes chercheurs un résumé de leur stage. Nous leur souhaitons à tous deux de continuer brillamment leur carrière en souhaitant qu'ils resteront attachés à la radioprotection. L'ordre alphabétique a été choisi pour ces présentations.

Étude de la mortalité par cancer chez les travailleurs des entreprises contractantes de l'industrie nucléaire française. G. Richard. Stage de master II (2005-2006), Responsable du stage : F. de Vathaire, directeur de l'unité INSERM U605.

Cette étude, réalisée dans un contexte international, a permis de mettre en évidence un très fort effet du travailleur sain, supérieur à celui constaté dans les autres études sur les rayonnements ionisants. En effet, on constate que les travailleurs de la cohorte meurent *dans la période considérée* environ deux fois moins que la population générale française, aussi bien en prenant en compte toutes les causes de mortalité ($SMR = 0,48$ [0,42 ; 0,55]), qu'en prenant uniquement en compte la mortalité par cancer ($SMR = 0,50$ [0,39 ; 0,63]).

Au niveau de l'étude sur les décès *de cette cohorte* toutes causes de mortalité, aucun facteur ne se distingue significativement. En effet, les différents tests d'homogénéité et de tendance montrent qu'il n'existe pas d'effet du sexe (P-value = 0,17), de l'âge (p = 0,64), ni de la période calendaire considérée (p = 0,09). Par ailleurs, il n'a pas été possible de mettre en évidence l'existence d'une relation dose-effet puisque les tests ne sont pas significatifs avec des P-values supérieures au seuil de 5 %.

En ce qui concerne l'étude de la mortalité par cancer, on arrive à des conclusions relativement peu différentes. On ne constate pas d'effet du sexe (p = 0,40), de l'âge (p = 0,66), ni de la période calendaire (p = 0,31). La relation dose-effet entre la dose cumulée de rayonnements ionisants reçus et la mortalité par cancer a été modélisée par une relation linéaire et conduit à un excès de risque relatif de 70 % ($IC = [-5\% ; 200\%]$) pour 100 mSv, correspondant donc à un risque relatif de 1,7 ($IC = [0,95 ; 3]$) pour 100 mSv. Ce risque relatif n'est pas significatif compte tenu de la P-value égale à 0,07 et de l'intervalle de confiance incluant la valeur 1.

Le principal inconvénient de cette étude est que le nombre de sujets suivis, et donc le nombre de décès observés, est relativement faible en comparaison à d'autres études, ainsi que la durée du suivi. Les répercussions directes ont été d'une part, l'impossibilité d'effectuer des calculs de SMR par site de cancer car le nombre de décès par cancer était trop faible, et d'autre part, l'obtention d'intervalles de confiance relativement larges ne permettant pas d'obtenir des résultats significatifs.

Il faut rappeler que la population de la cohorte est jeune, l'âge moyen à la fin du suivi est de 43,3 ans. Or, on sait que les cancers sont des maladies plus fréquentes à un âge plus élevé. Cette cohorte va continuer à être suivie de façon prospective pendant plusieurs années de façon à mettre en place une étude d'incidence, mais également pour obtenir un suivi plus important pour l'étude de la mortalité. Ce suivi supplémentaire permettra d'accroître la taille de la cohorte en terme de personnes-années, mais également d'observer un nombre plus important de cancers. L'étude de la mortalité aura donc une meilleure puissance et pourra mettre plus facilement en évidence des risques relatifs différents de 1. Cela permettra également de calculer des SMR pour différents sites de cancer, et donc de compléter l'étude réalisée actuellement.

Modulation de la radiosensibilité tumorale par inhibition de la voie Rho/ROCK. S.

Rivera. Stage de master II (2005-2006) de cancérologie/radiobiologie. Responsable de stage : Dr M.C. Vozenin-Brotons, directeur du laboratoire d'accueil : Pr J. Bourhis, Laboratoire UPRES EA 27 10.

Introduction. La radiothérapie est impliquée dans le traitement d'environ 60 % des patients atteints de cancer. Elle a pour but de délivrer à la tumeur la dose nécessaire au contrôle tumoral tout en préservant les tissus sains adjacents des toxicités radio-induites. Pour améliorer l'efficacité des traitements actuels et diminuer leur toxicité de nombreuses stratégies combinant radiothérapie et molécules pharmacologiques sont développées parmi lesquelles sont proposées des inhibiteurs de la voie Rho/ROCK. Cette voie est impliquée dans la réorganisation du cytosquelette d'actine, le contrôle du cycle cellulaire, la prolifération et la migration cellulaire. Des taux élevés de Rho et ROCK ont été rapportés dans différentes lignées tumorales et semblent corrélés à un phénotype tumoral plus agressif. De plus, l'inhibition de la voie Rho/ROCK semble pouvoir moduler la radiosensibilité mais les données de la littérature sont encore discordantes à ce sujet. L'objectif de l'étude a été d'explorer l'implication de la voie Rho/ROCK dans la modulation de la radiosensibilité tumorale grâce à des inhibiteurs pharmacologiques de Rho et de ROCK.

Matériel et méthodes. Deux lignées humaines de carcinome du col utérin (HeLa) et de prostate (PC3) ont été choisies. La radiosensibilité tumorale a été évaluée *in vitro* après irradiation (0-6 Gy, RX 200 kV) par tests de survie clonogénique et modulée par un inhibiteur de Rho : la pravastatine (0-500 µM); des inhibiteurs de ROCK : hydroxyfasudil (0-100 µM), Y-27632 (0-50 µM), SA ou SB (0-10 µM). Des expériences de retard de croissance tumorale par xénogreffe HeLa sur souris nude ont été réalisées sous pravastatine (40 mg/kg/j et 100 mg/kg/j) ± irradiation (2 × 7,5 Gy). L'activité Rho a été évaluée par immuno-fluorescence et pull-down (Kit Pierce Bio), l'activité ROCK par étude de la phosphorylation de la Myosine Light Chain (Western Blot). La modulation du contrôle du cycle cellulaire a été évaluée par étude de l'expression de p21 et p27 (Western Blot). Enfin, un test d'invasion en matrigel a été réalisé afin d'évaluer le potentiel migratoire des cellules HeLa irradiées +/- Y-27632.

Résultats. La pravastatine exerce un effet radiosensibilisant *in vitro* sur les cellules HeLa. *In vivo*, la pravastatine n'exerce pas d'effet radioprotecteur sur les xénogreffes de cellules HeLa mais elle ne majore pas significativement le retard de croissance tumorale induit par la radiothérapie. Les tests biochimiques d'activité Rho montrent que l'irradiation augmente la

forme membranaire et activée de Rho (Rho-GTP), ce qui suggère que l'effet radiosensibilisant de la pravastatine passe par l'inhibition de Rho. N'ayant pas observé d'induction d'apoptose par la combinaison pravastatine + radiothérapie, nous avons étudié la régulation du cycle cellulaire *via* p21 et p27. Les Western Blots montrent que la pravastatine induit une augmentation du taux de p21 mais ne module pas celui de p27. Les études associant la pravastatine à l'irradiation sont en cours.

Aucun des inhibiteurs de ROCK testé (4 agents pharmacologiques différents) ne module la radiosensibilité cellulaire *in vitro*. Ceci est cohérent avec les Western Blots montrant que l'irradiation ne module pas le taux de phosphorylation de la MLC et témoigne de l'absence de modulation radio-induite de l'activité ROCK. De plus, les inhibiteurs de ROCK sont sans effet sur le taux de p21 mais diminuent le taux de p27 indépendamment de l'irradiation, ce qui suggère une action de régulation du cycle cellulaire. En revanche, l'inhibition de ROCK par le Y-27632 permet de diminuer les capacités migratoires des cellules HeLa *in vitro* et cet effet est majoré lorsque le Y-27632 est associé à l'irradiation.

Conclusion. Nos résultats suggèrent que les protéines de la famille Rho sont impliquées dans la modulation de la radiosensibilité tumorale, indépendamment des protéines ROCK. Cet effet sur la radiosensibilité semble indépendant de l'apoptose mais pourrait impliquer le contrôle du cycle cellulaire *via* des protéines régulatrices comme p21, p27 et/ou certaines cyclines. Les voies moléculaires en aval de Rho restent toutefois à caractériser. En revanche, les ROCK semblent impliquées dans la migration des HeLa probablement en contrôlant l'assemblage du cytosquelette d'actine, la contractilité cellulaire et l'émission de lamellipodes notamment par l'intermédiaire des LIMKs. En effet, les inhibiteurs de ROCK inhibent la migration des HeLa. Cet effet est majoré par la combinaison de ces inhibiteurs avec l'irradiation. Ces observations ouvrent de nouvelles pistes de recherche dans le domaine des stratégies anti-métastatiques.