

Bourse SFRP

La SFRP a attribué une bourse à une jeune étudiante pour son stage de mastère 2^e année de recherche. Nous avons le plaisir de publier dans cette rubrique destinée aux jeunes chercheurs un résumé de son stage. Nous lui souhaitons de continuer brillamment sa carrière en souhaitant qu'elle restera attachée à la radioprotection.

Rôle du cytosquelette et de la voie Rho/ROCK dans le contrôle de la différenciation fibrogénique radio-induite et implication pour le traitement des toxicités radio-induites tardives. M. Gilbert. Stage de master II (2006-2007) de cancérologie/radiobiologie, responsable de stage : Dr M.C. Vozenin-Brotons, directeur du laboratoire d'accueil : Pr J. Bourhis, Laboratoire UPRES EA 27 10.

Première partie. L'efficacité de la radiothérapie est limitée par la tolérance des tissus sains qui se traduit par le développement de fibroses radio-induites tardives. Il a été montré chez les patients atteints d'entéropathie radio-induite, un déséquilibre global du renouvellement matriciel où les rapports collagène/MMP/TIMP sont en faveur de l'accumulation des constituants matriciels et une analyse par cDNA array a montré de fortes perturbations de l'expression des gènes codant pour les protéines de la cascade Rho/ROCK dans les cellules musculaires lisses isolées d'entéropathie radio-induite. Ces cellules sont engagées dans un processus de différenciation fibrogénique caractérisé par une expression différentielle des isoformes de l'actine associée à un phénotype sécrétoire (production de matrice extracellulaire et de CTGF) et une altération de leur contractilité. Les travaux récents montrent que cette différenciation pathologique peut être contrôlée par inhibition pharmacologique de la voie Rho/ROCK *in vitro* par le Y-27632 (inhibiteur de ROCK) et la pravastatine (inhibiteur de Rho). De plus, l'inhibition de l'activité ROCK suggère que la protéine chaperonne de l'actine HSP27 pourrait être le lien moléculaire entre la voie de transduction Rho/ROCK, le réseau d'actine du cytosquelette, l'expression du CTGF et la différenciation fibrogénique radio-induite. La première partie de mon travail consistera à approfondir les mécanismes d'action de la pravastatine par l'étude de la fibrolyse et plus particulièrement de la balance MMP/TIMP impliquée dans le remodelage matriciel. Par ailleurs, dans le but de modifier le phénotype de fibrose, nous nous proposons d'étudier l'action anti-fibrosante d'un nouvel inhibiteur de ROCK. De plus, la littérature montre une relation entre la fibronectine et la voie de transduction du signal Rho par l'intermédiaire d'intégrines, ainsi qu'une modulation de l'assemblage des réseaux de fibronectine par la voie Rho *via* la régulation de la polymérisation du cytosquelette, influençant la prolifération et la différenciation des CML. Grâce à un modèle de MEC *in vitro* réalisé au laboratoire, il a été montré une voie d'activation directe entre le micro-environnement, les récepteurs membranaires et le noyau cellulaire ainsi qu'une étroite collaboration possible entre les intégrines impliquées dans l'adhésion cellulaire et le cytosquelette régulé par la voie Rho/ROCK. Nous chercherons à savoir si la fibronectine, par action sur la régulation de la composition de la MEC et la constitution d'une boucle d'activation chronique impliquant la voie Rho, ne pourrait pas participer au maintien de la

différenciation fibrogénique. La seconde partie de mon travail consistera donc à évaluer si la fibronectine et le collagène induisent l'expression de CTGF via la voie Rho/ROCK et si oui, par l'intermédiaire de quels récepteurs.

Seconde partie. Actuellement, 30 000 patients par an sont traités par radiothérapie pour un cancer du pelvis et certains d'entre eux sont susceptibles de développer une entéropathie radio-induite tardive qui se caractérise par une fibrose transmurale (phénomène de cicatrisation tissulaire chronique). Des études antérieures ont montré l'implication de facteurs profibrosants tels que le TGF- β 1 et le CTGF dans le maintien de la différenciation fibrogénique des cellules du mésenchyme. Les résultats obtenus ont permis d'émettre une hypothèse concernant l'implication des composants matriciels et des protéines du remodelage matriciel dans le maintien de cette différenciation.

Des études ont permis de montrer l'implication du TGF- β 1 et du CTGF *via* la voie Rho/ROCK dans le maintien de la différenciation fibrogénique en utilisant notamment des inhibiteurs pharmacologiques tels que la pravastatine et le Y-27632. La pravastatine a montré *in vitro* une modulation du phénotype fibrogénique des CML et une amélioration de l'entéropathie radio-induite chronique.

Dans le but d'approfondir le mécanisme d'action de ce nouveau traitement anti-fibrosant, la première partie de ce projet a porté sur l'étude de la fibrolyse entraînée par la pravastatine et plus particulièrement sur la balance MMP/TIMP impliquée dans le remodelage matriciel. Les résultats obtenus suggèrent que le traitement à la pravastatine stimule le remodelage matriciel dépendant des MMP-3 15 semaines après irradiation et que ce remodelage cesse 26 semaines après irradiation, une fois le tissu reconstitué. En revanche, le remodelage persiste chez les animaux non traités et pourrait être lié au processus de cicatrisation chronique de l'entéropathie.

En parallèle et dans le but de réduire le phénotype de fibrose, l'action anti-fibrosante d'un nouvel inhibiteur de ROCK (sous deux formes A et B) a été étudiée : tous les résultats n'ont pas encore été obtenus mais il semblerait que l'action de A soit plus efficace que celle de B bien que A ne module l'activité ROCK que de façon transitoire.

La deuxième partie de ce projet a consisté à étudier l'action fibrogénique de la matrice extra-cellulaire (MEC) : les premiers résultats semblent montrer une modulation de l'adhésion des cellules musculaires lisses normales et isolées de fibrose en fonction du support et du temps ainsi qu'une modulation de l'expression génique des facteurs pro-fibrosants. Des marquages immunohistochimiques ont été réalisés sur les deux types cellulaires et ils semblent montrer une action spécifique et différentielle de la MEC sur l'expression des molécules d'adhésion et en particulier de l'intégrine β -1 qui pourrait être un élément important de la différenciation fibrogénique.