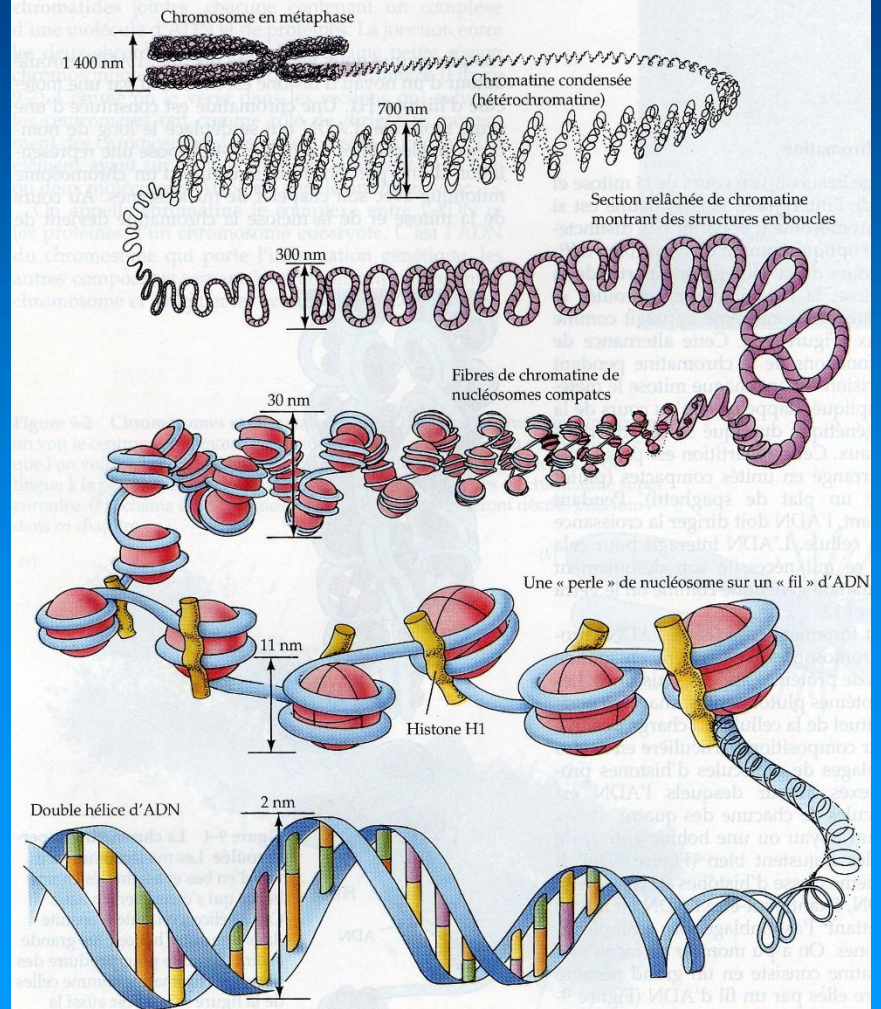


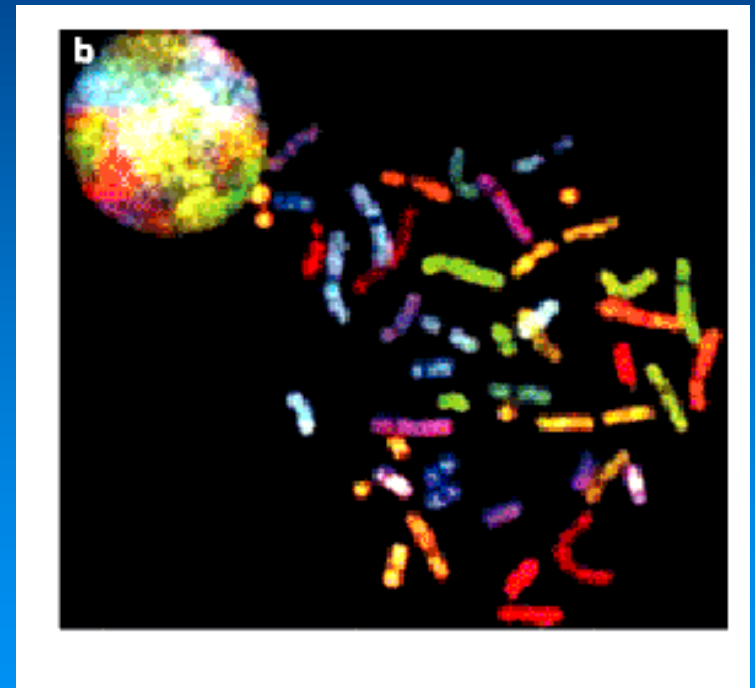
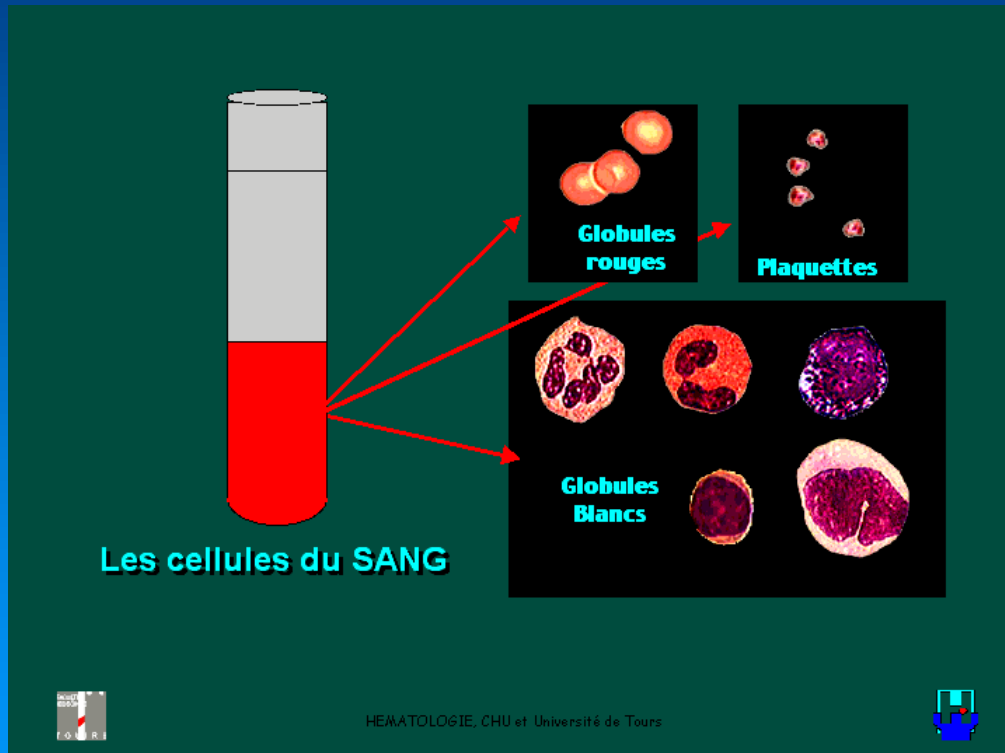
# Les nouveaux médicaments grâce à l'essor de la biologie moléculaire



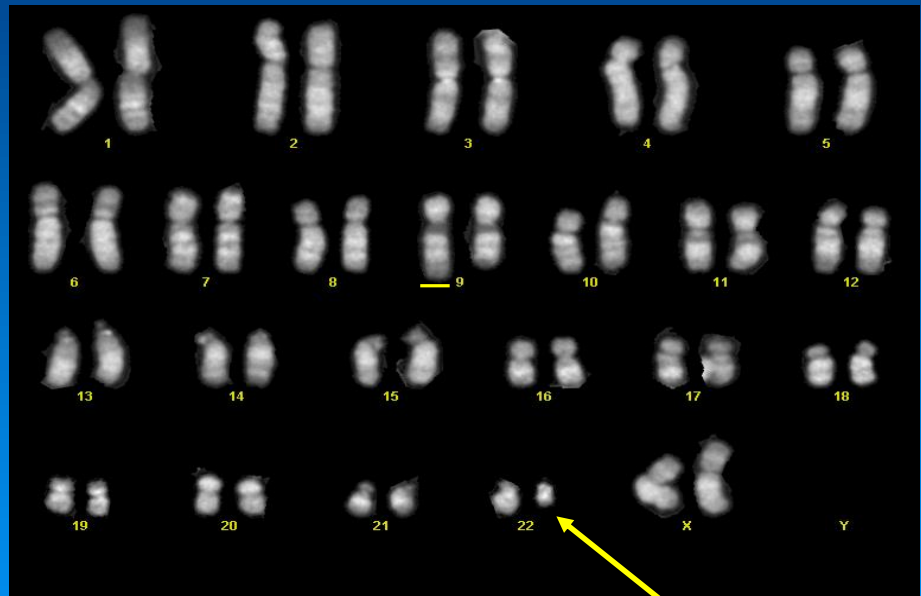
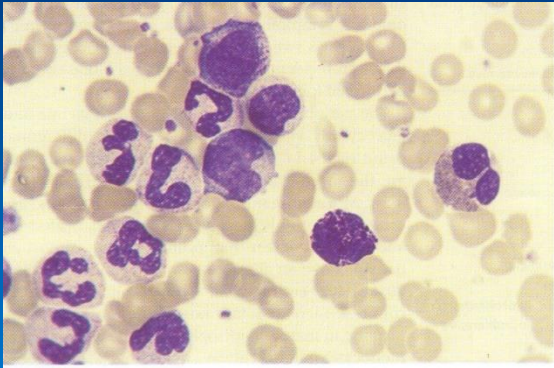
Figure 9-5 Niveaux d'empaquetage de l'ADN Schéma montrant comment l'ADN est « empaqueté » dans un chromosome en métaphase.



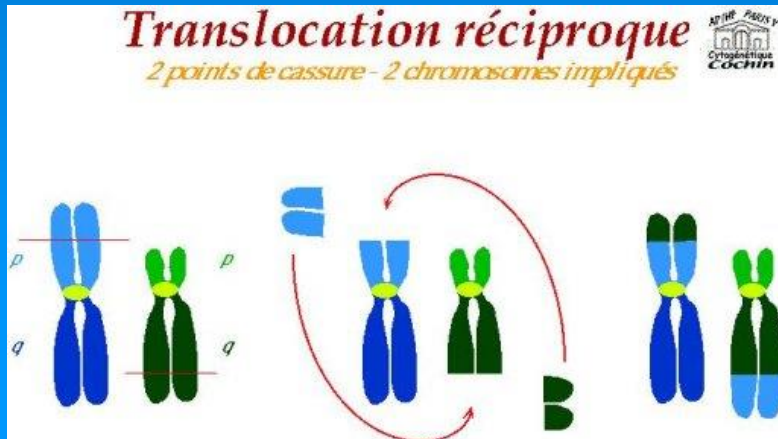
# *Exemple de médicament pour le traitement des leucémies*



# Exemple de médicament: le glivec pour la LMC



La leucémie myéloïde chronique



Chromosome de Philadelphie



# Exemple de médicament: le Glivec

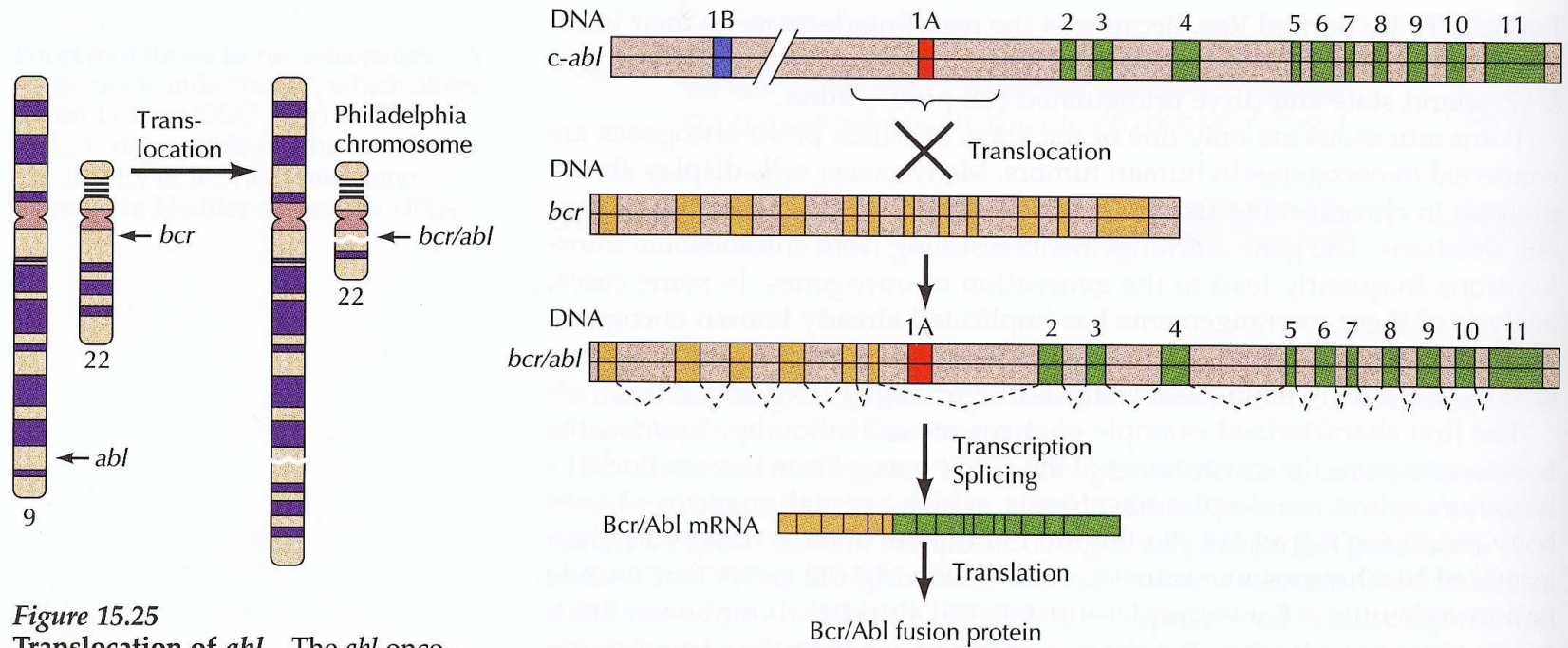
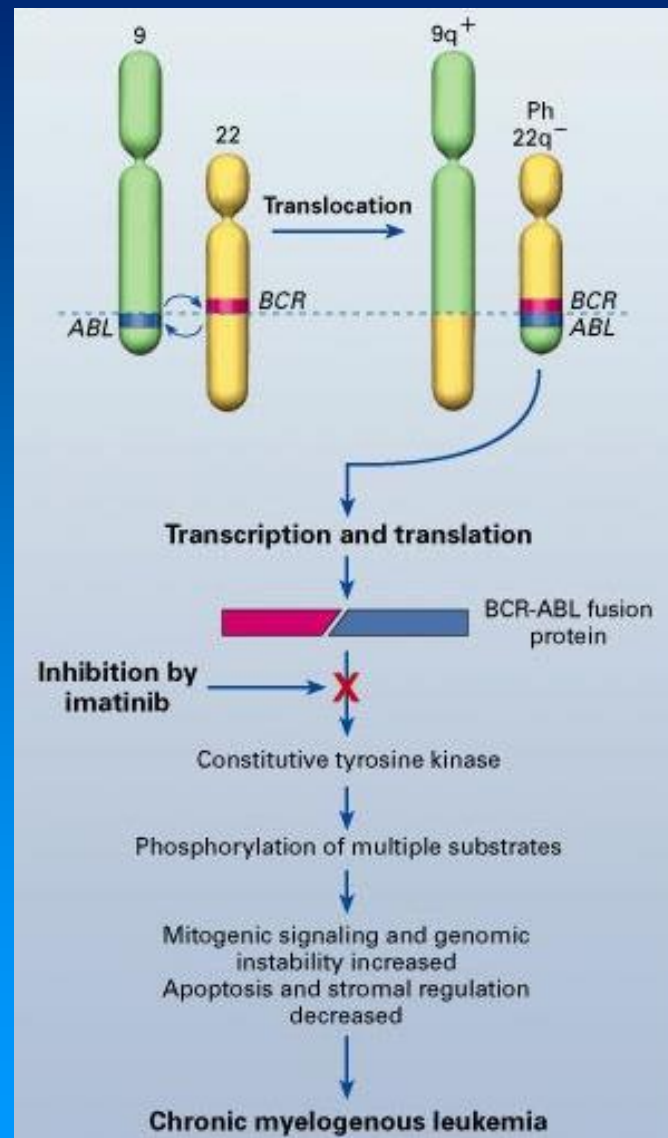
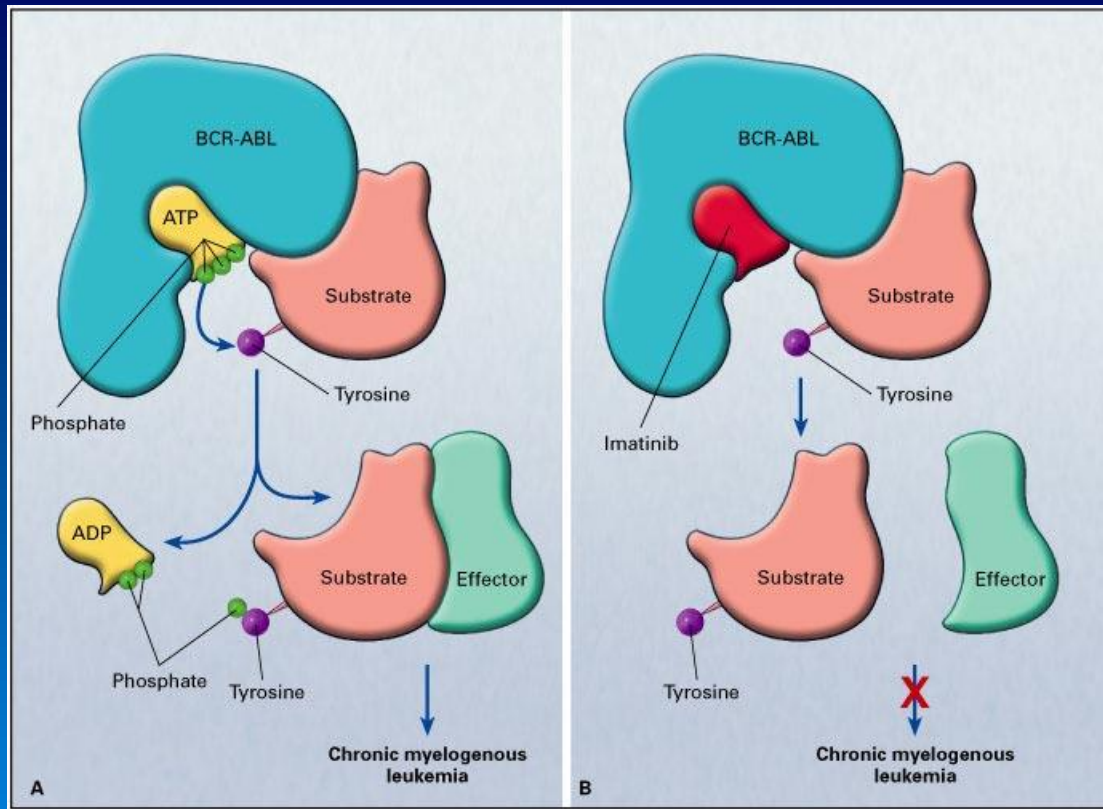


Figure 15.25  
Translocation of *abl* The *abl* onco-



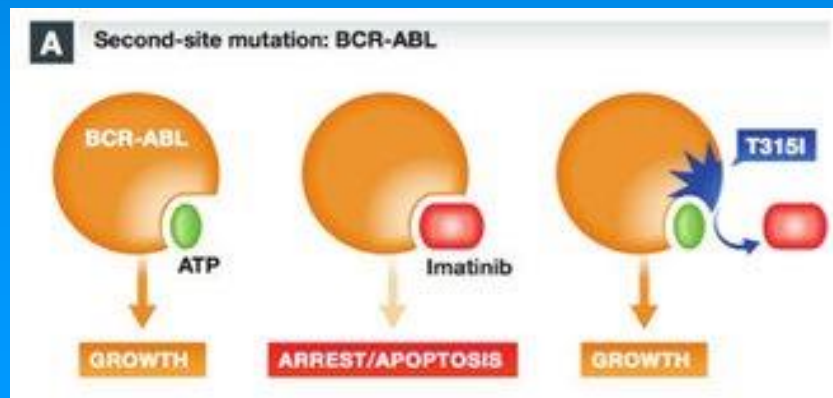
# Exemple de médicament: le Glivec



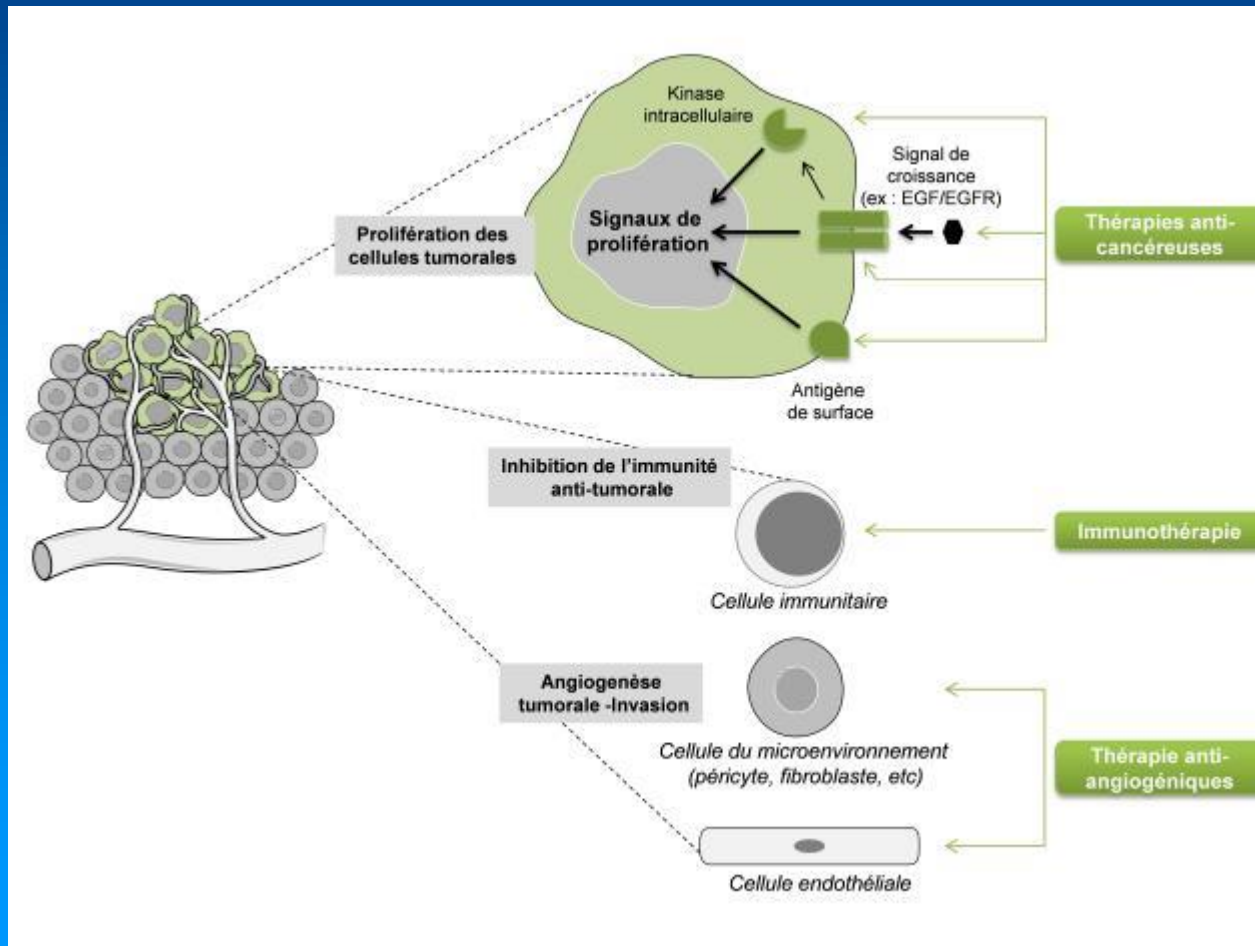


## Molécule inhibitrice de la kinase BCR-ABL

Inhibe la prolifération et entraîne l'apoptose des cellules leucémiques exprimant cette kinase



# Les thérapies ciblées anti-cancéreuses

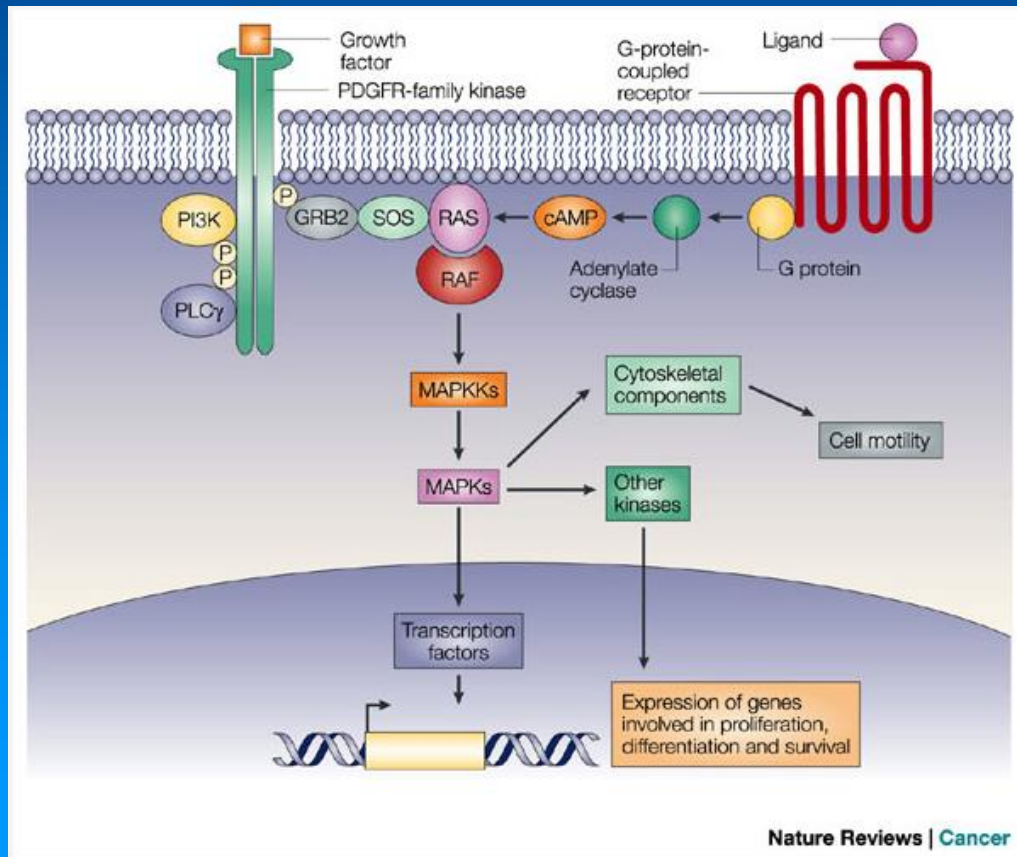




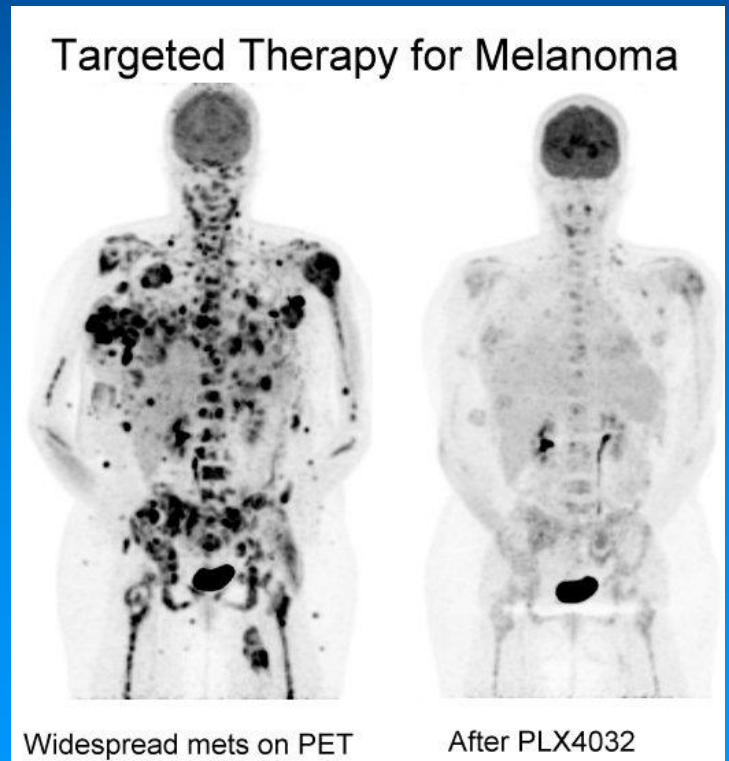
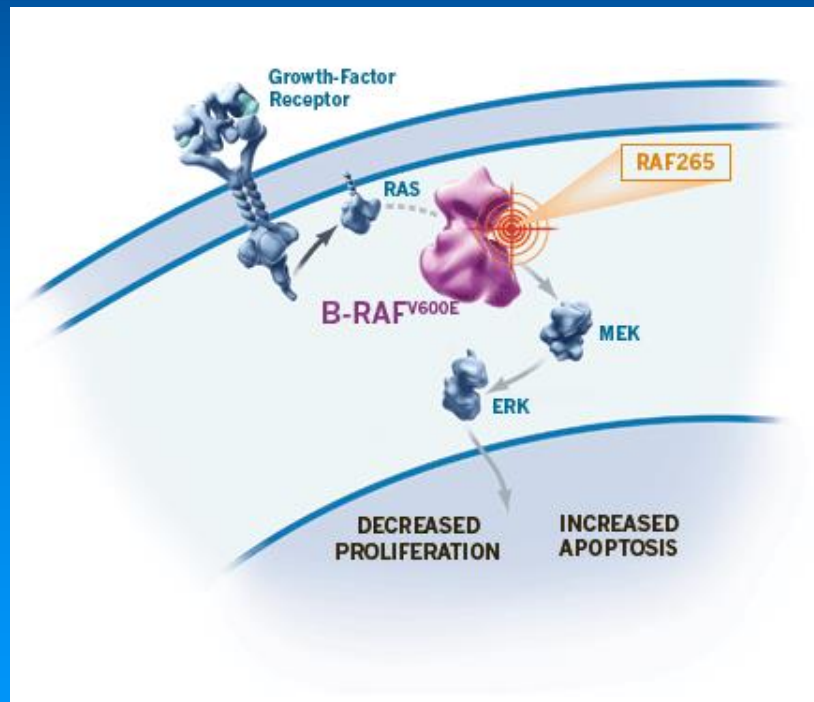
# *Exemple de médicament: les inhibiteurs de la kinase RAF dans les mélanomes*



# *Exemple de médicament: les inhibiteurs de la kinase RAF dans les mélanomes*

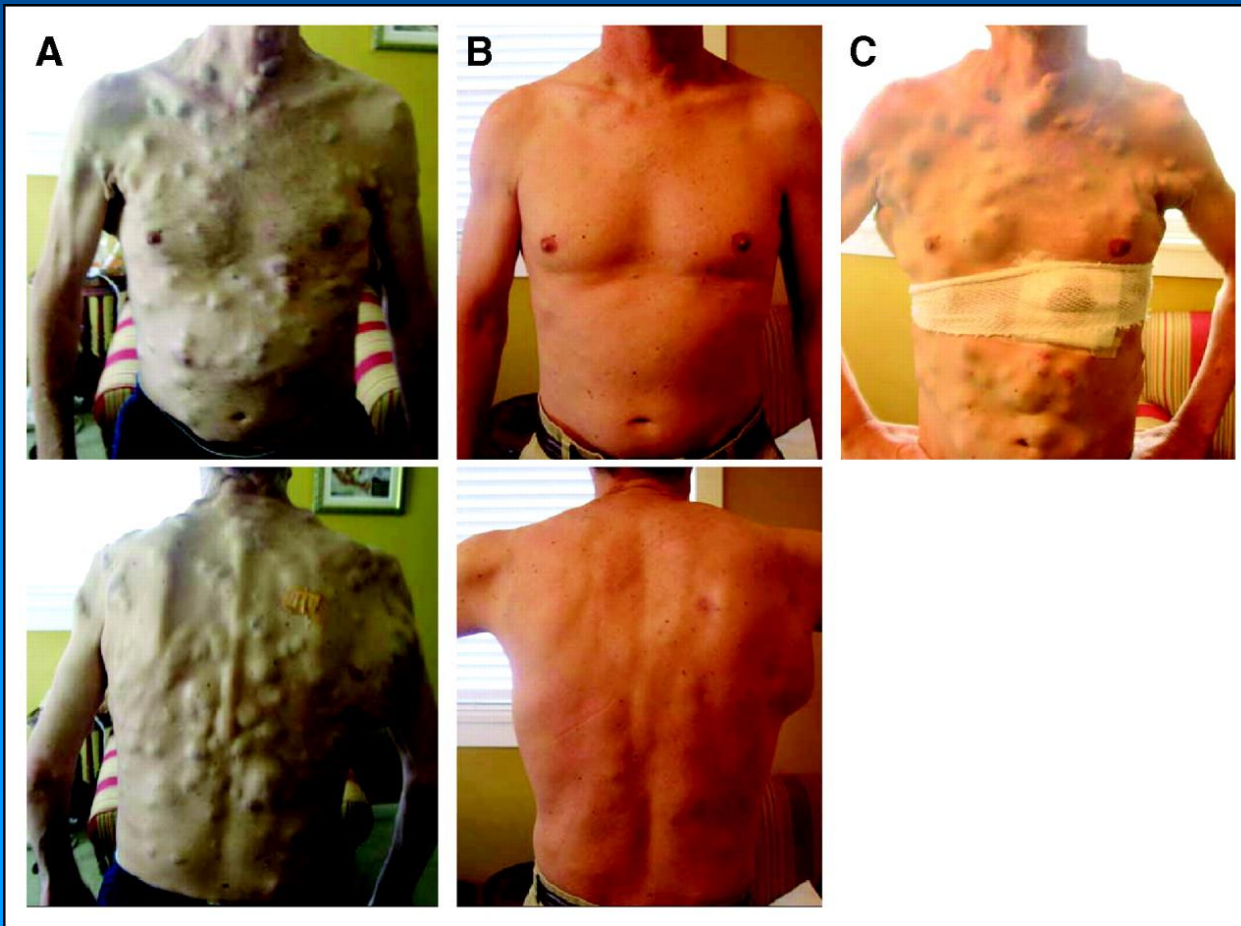


# *Exemple de médicament: les inhibiteurs de la kinase RAF dans les mélanomes*

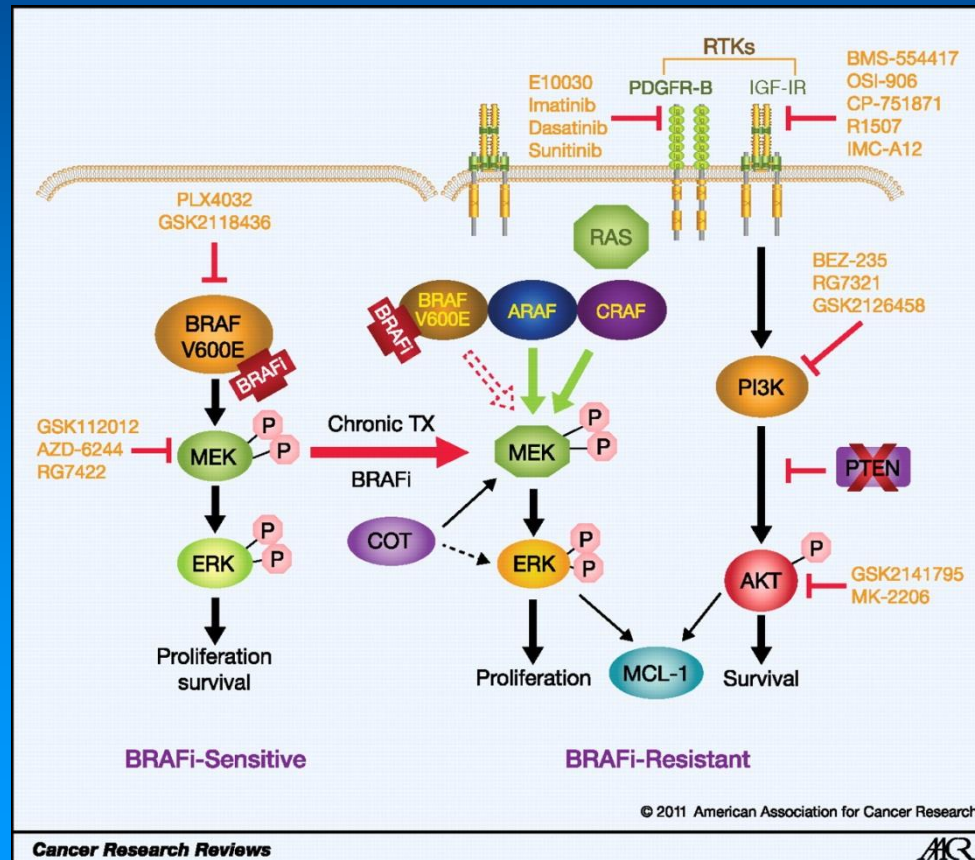




*Exemple de médicament: les  
inhibiteurs de la kinase RAF dans  
les mélanomes*



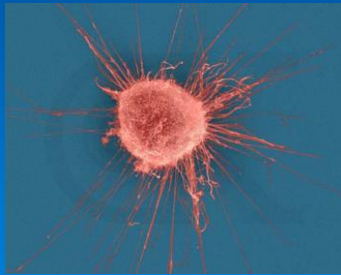
# Exemple de médicament: les inhibiteurs de la kinase RAF dans les mélanomes



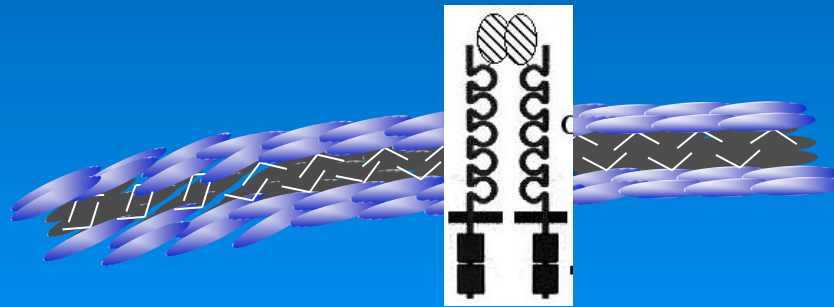
# *Exemple de médicament: l'Herceptine*

Les cellules issues d'un cancer du sein surexpriment un récepteur, **Her-2**

HER-2 = Human epidermal growth factor Receptor-2



Cellule cancéreuse  
(cancer du sein)



prolifération

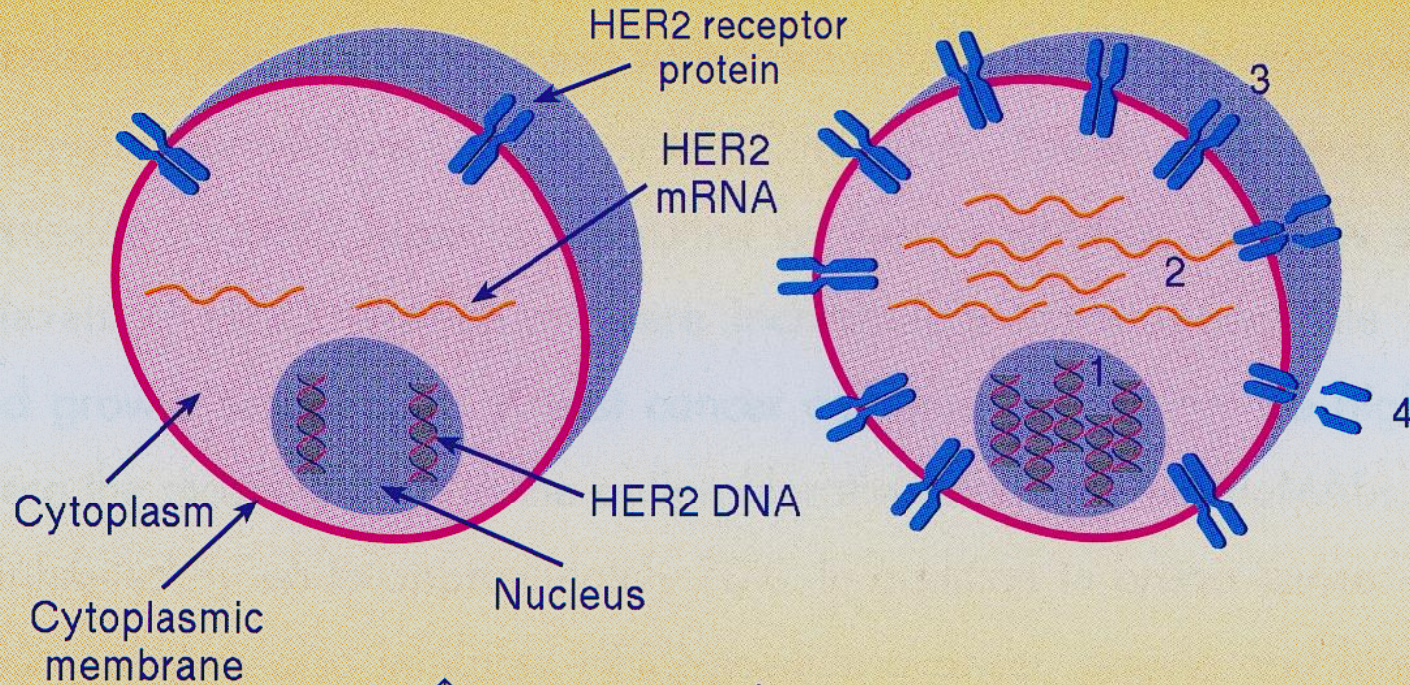
Cellule saine = rarement + de 2000 par cellule

Cellule cancéreuse = plus de  $2 \times 10^6$  par cellule



Normal

Amplification/overexpression



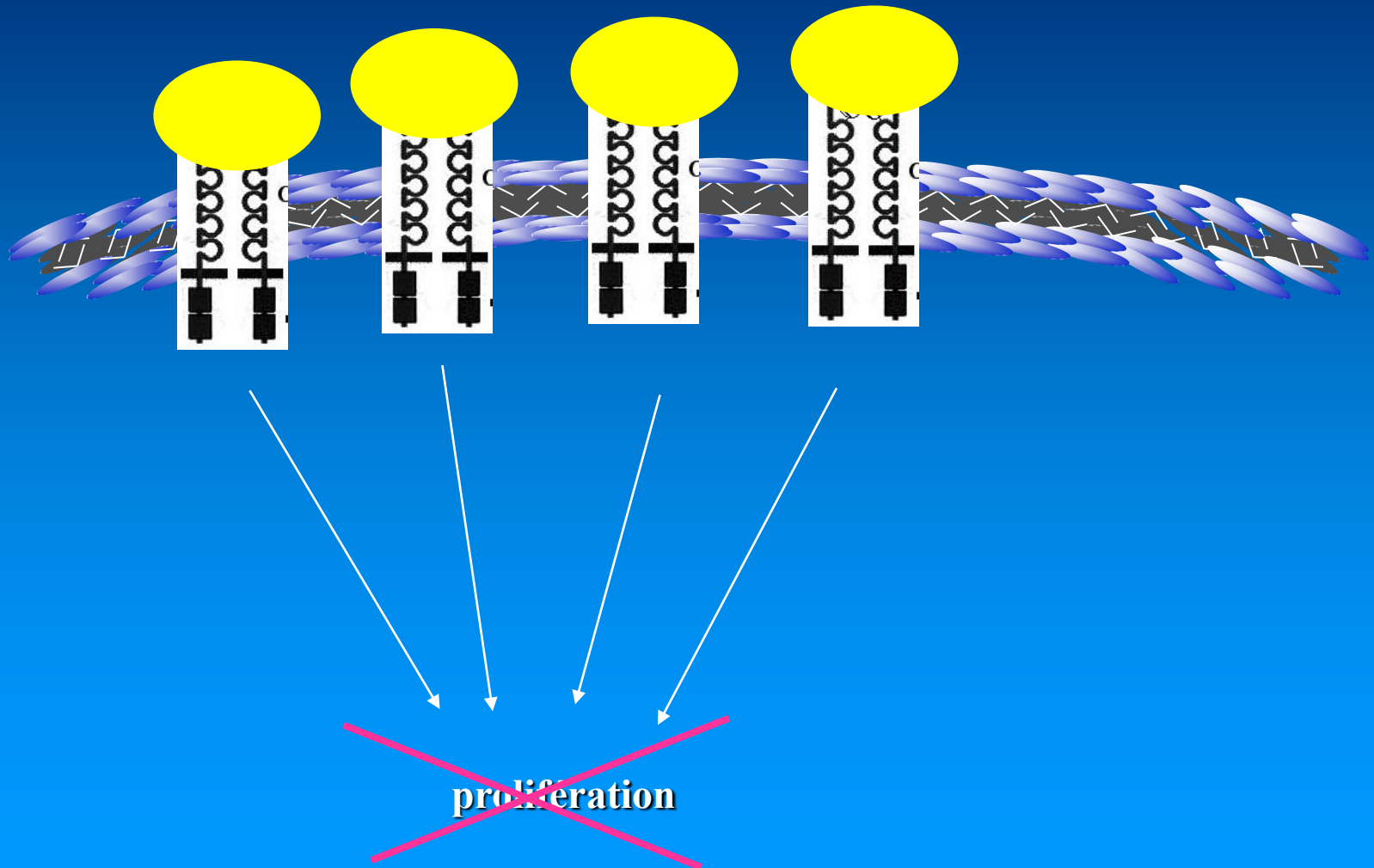
1 = ↑ gene copy number

2 = ↑ mRNA transcription

3 = ↑ cell surface receptor protein expression

4 = ↑ release of receptor extracellular domain

Herceptin = anticorps bloquant qui empêche les facteurs de croissance de venir stimuler la cellule





# Les secrets et les pathologies de l'intestin



L'architecture intestinale

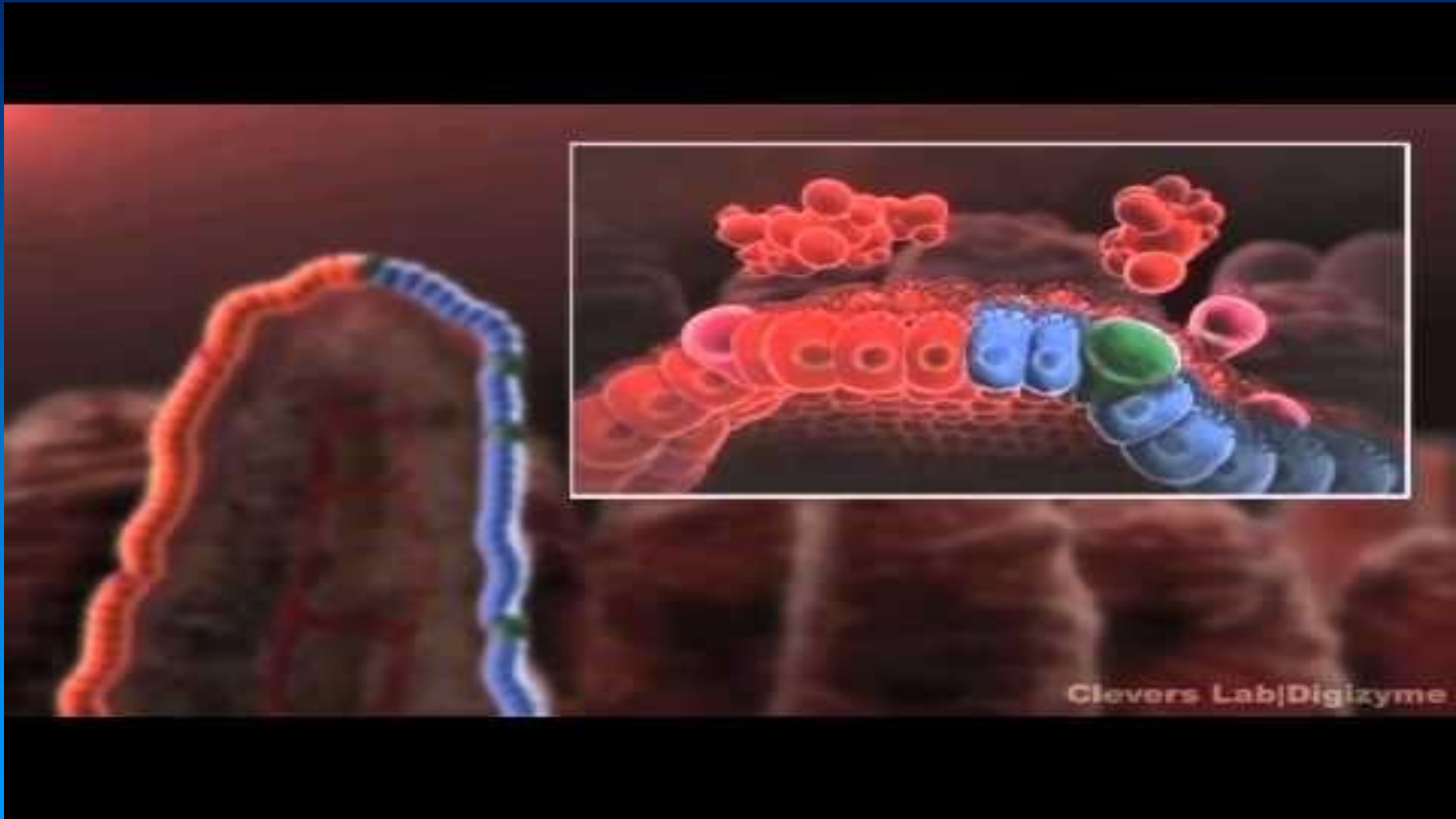
Le microbiote

Les maladies inflammatoires chroniques

Les tumeurs intestinales

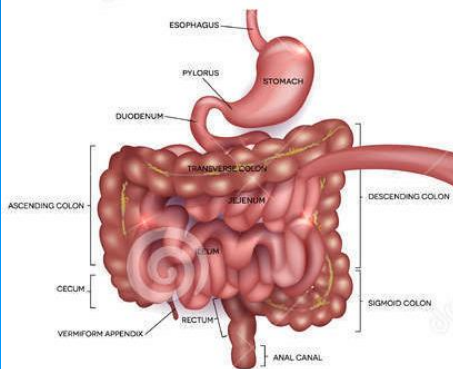
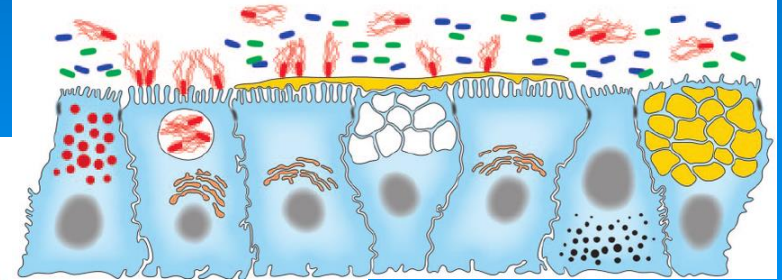
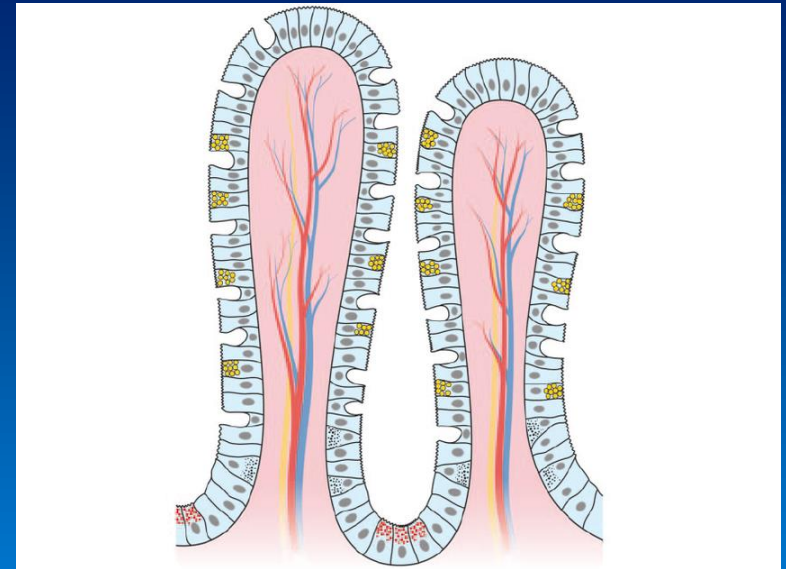
Exemple de recherche fondamentale



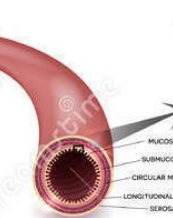


Clevers Lab|Digizyme

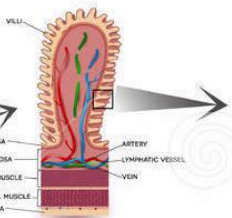
# Architecture de l'intestin



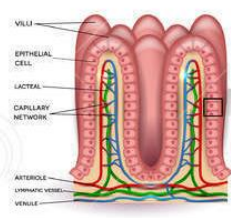
**GASTROINTESTINAL TRACT**



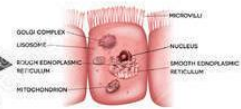
**SMALL INTESTINE**



**A FOLD OF THE INTESTINAL LINING**

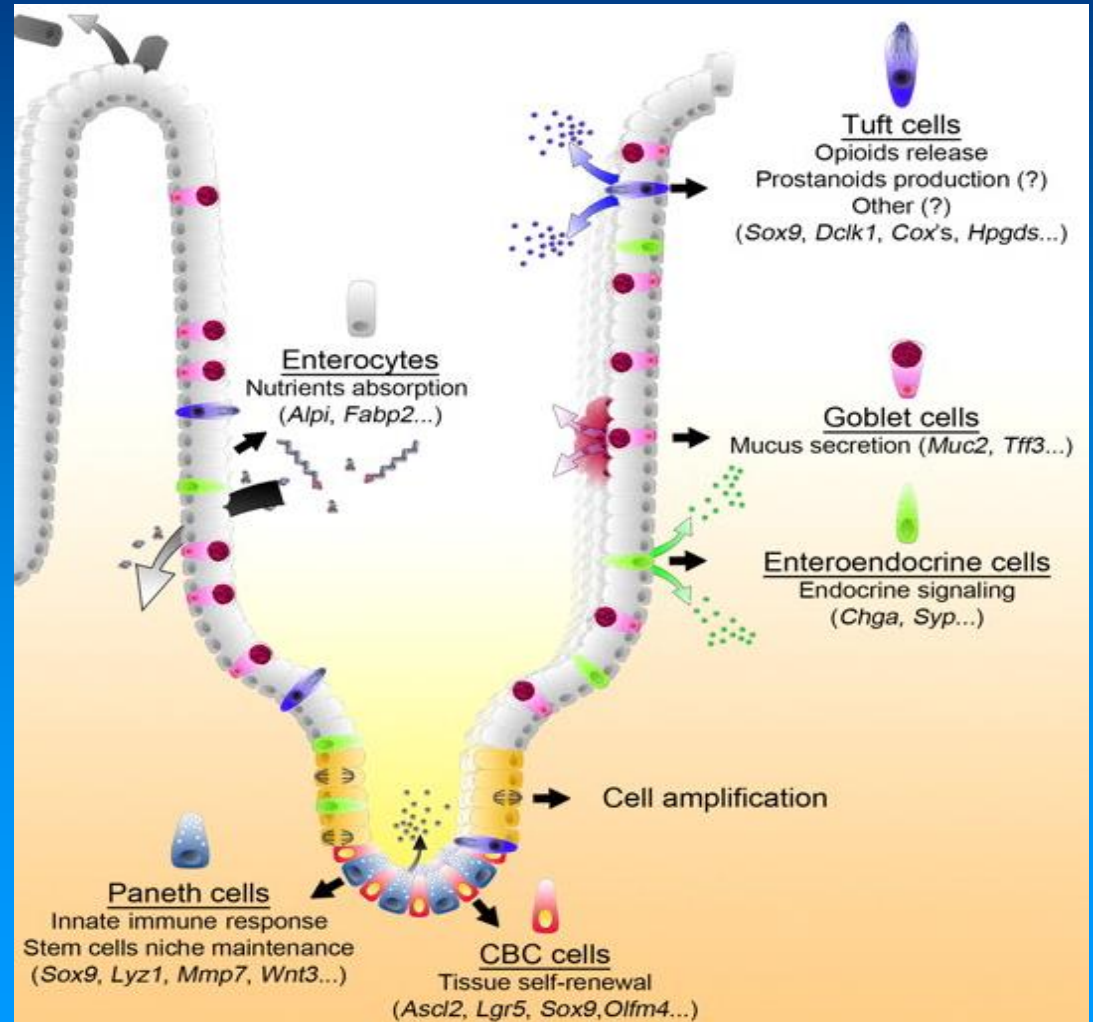


**VILLI**



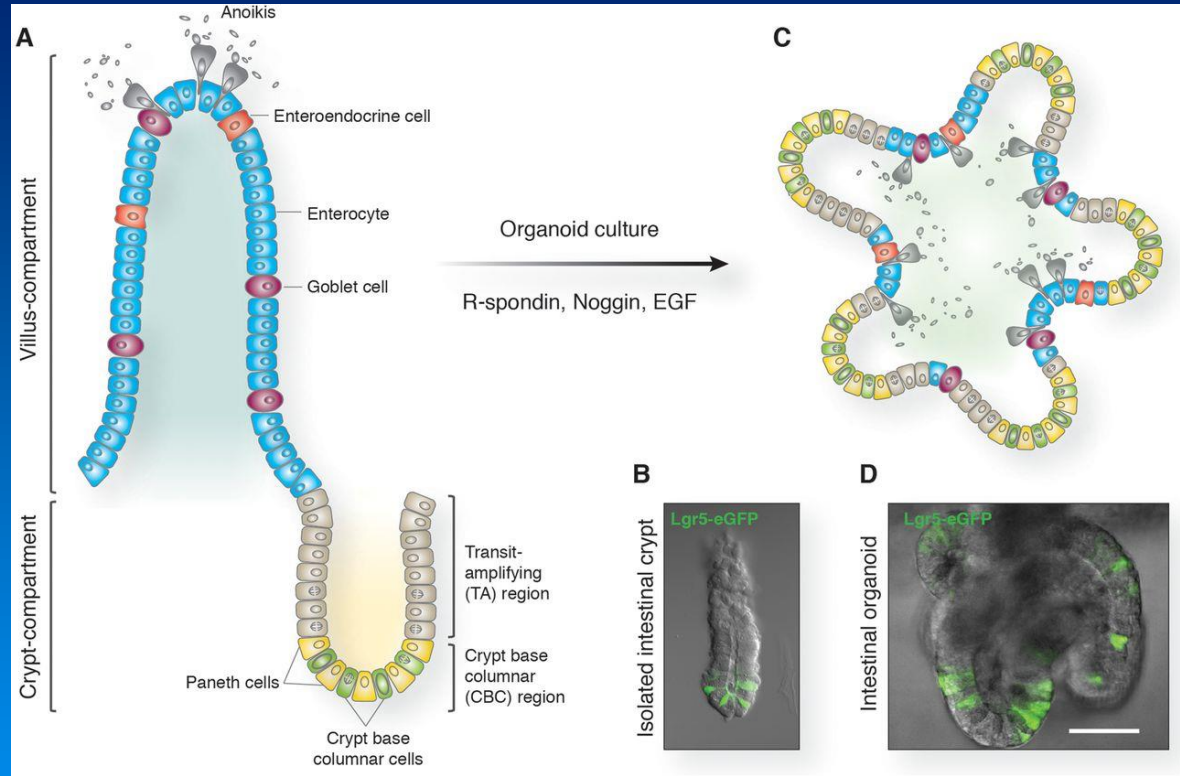
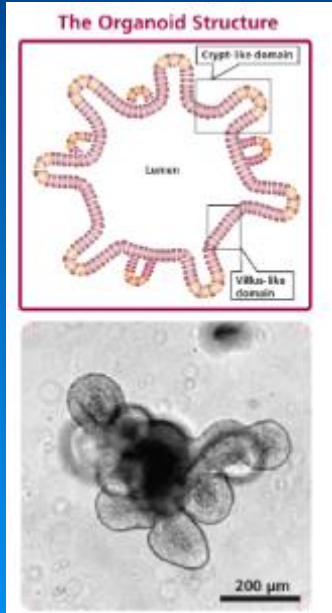
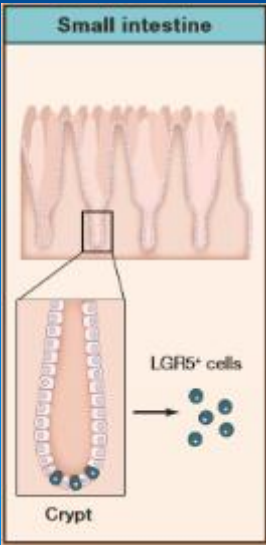
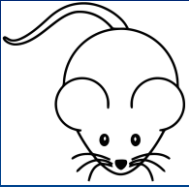
**EPITHELIAL CELL WITH MICROVILLI**

# Architecture de l'intestin





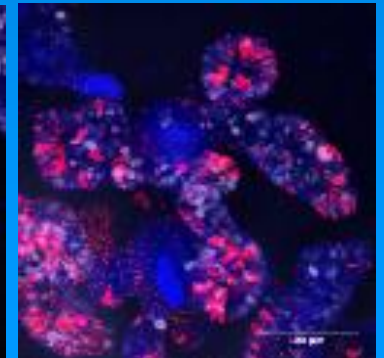
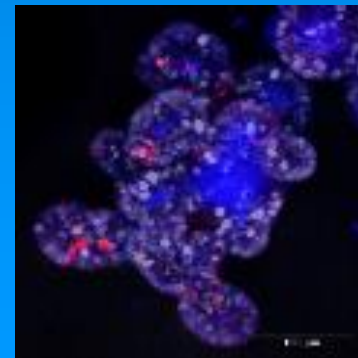
# Reconstruction d'intestins en laboratoire



Control

IL-13

DeIKI



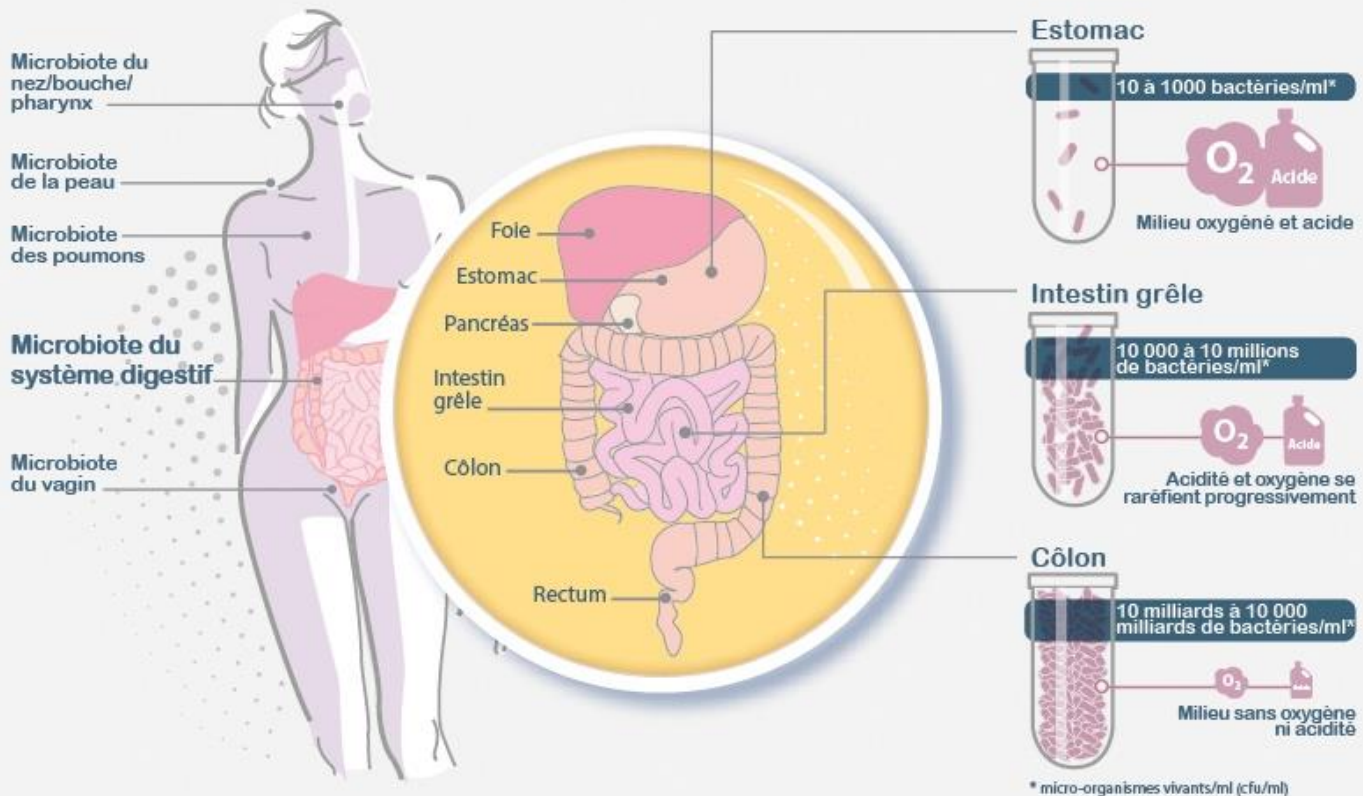


# Le microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est le plus important microbiote du corps.

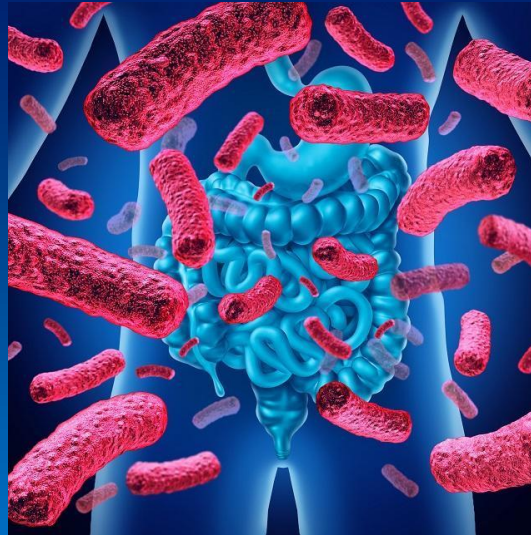
Il colonise les parois de l'estomac et des intestins...

...et se concentre surtout dans le côlon.



\* micro-organismes vivants/ml (cfu/ml)

# Le microbiote intestinal



Notre  
**flore intestinale**  
EST CONSTITUÉE DE

**2** kg

DE MICRO-ORGANISMES

CERTAINES

**Maladies**

SONT ASSOCIÉES À UN  
**déséquilibre** de la  
**flore intestinale**

UN RÔLE DANS

- **la digestion**
- **l'immunité**

Notre tube digestif abrite pas moins de  $10^{12}$  à  $10^{14}$  micro-organismes, soit **2 à 10 fois** plus que le nombre de cellules qui constituent notre corps. Cet ensemble de bactéries, virus, parasites et champignons non pathogènes constitue notre microbiote intestinal (ou flore intestinale).

# Le microbiote intestinal

100 fois plus

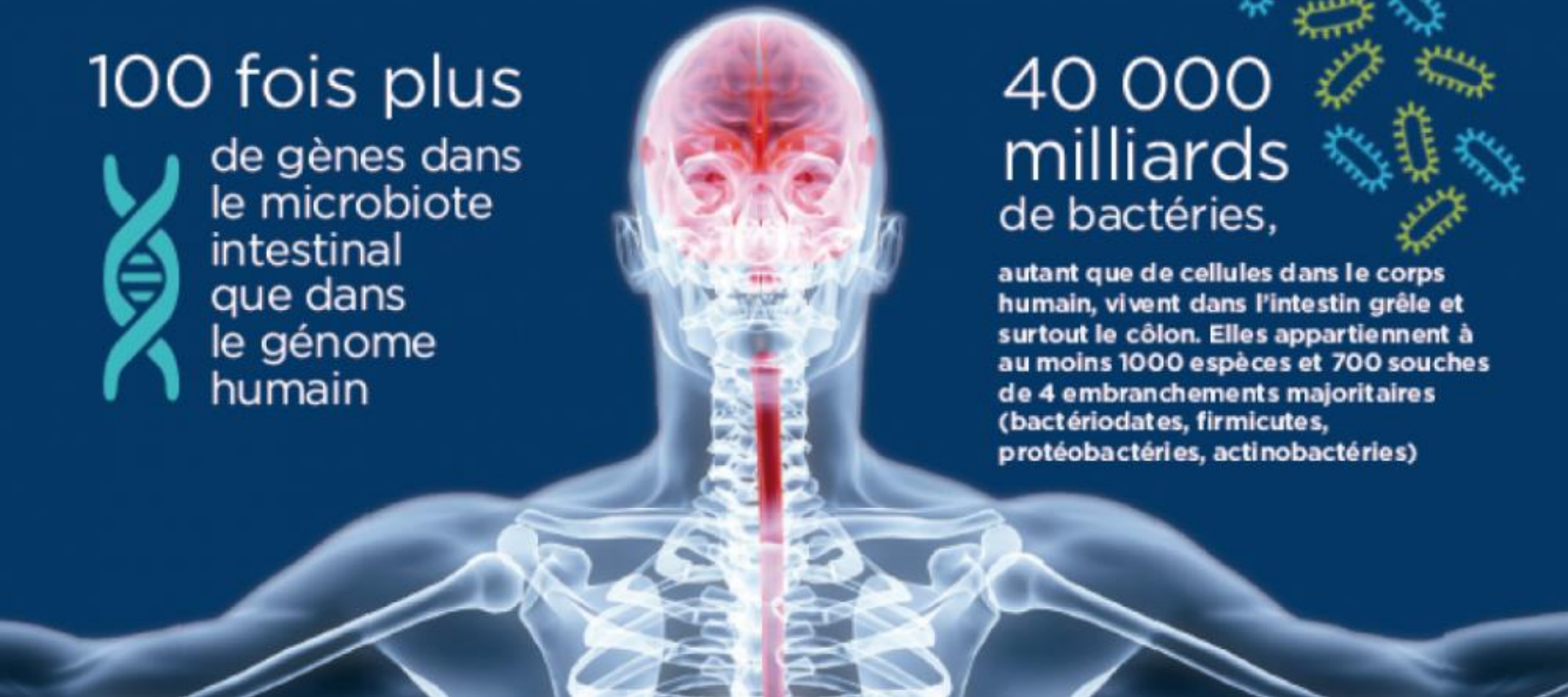


de gènes dans  
le microbiote  
intestinal  
que dans  
le génome  
humain

40 000  
milliards  
de bactéries,



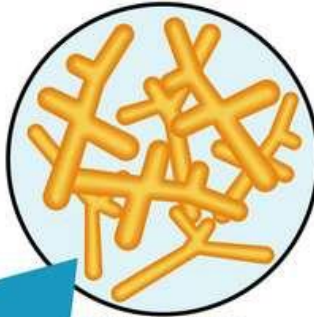
autant que de cellules dans le corps  
humain, vivent dans l'intestin grêle et  
surtout le côlon. Elles appartiennent à  
au moins 1000 espèces et 700 souches  
de 4 embranchements majoritaires  
(bactériodates, firmicutes,  
protéobactéries, actinobactéries)





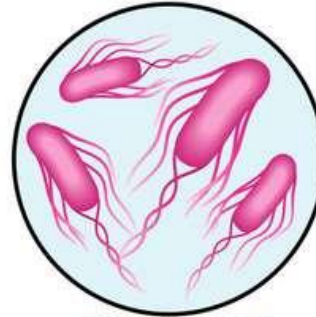
# Le microbiote intestinal

## Bonnes et mauvaises flore bactériennes



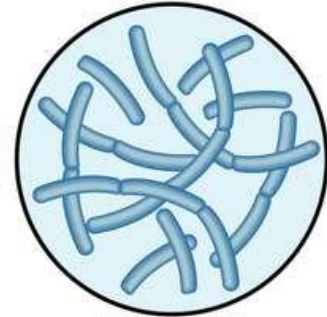
**Bifidobactéries**

Ces bactéries aident à contrôler les niveaux d'autres bactéries, modulent les réponses immunitaires, préviennent la formation de tumeurs et produisent des vitamines.



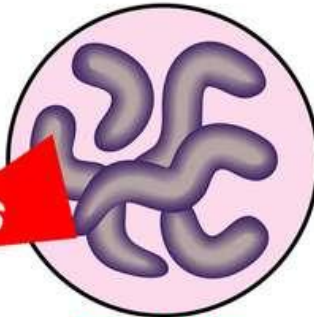
**Escherichia coli**

Différents types d'E. coli vivent dans l'intestin humain. Elles sont impliquées dans la production de vitamine K2 (importante pour la coagulation du sang) et aident à contrôler les mauvaises bactéries. Mais certaines souches conduisent à des maladies.



**Lactobacilles**

Certaines bactéries bénéfiques produisent des vitamines et des nutriments, stimulent l'immunité et protègent contre des substances cancérigènes.



**Campylobacter**

C. jejuni et C. coli sont des souches associées à des maladies humaines. L'infection a lieu généralement par ingestion d'aliments contaminés.



**Enterococcus faecalis**

Une cause courante d'infections post-chirurgicales.



**Clostridium difficile**

Bactérie responsable de la colite des antibiotiques, après un traitement antibiotique.

Bonnes

Mauvaises



# Le microbiote intestinal



A l'instar de l'empreinte digitale, le microbiote intestinal est **propre à chaque individu** : il est unique sur le plan qualitatif et quantitatif.

Parmi les **160 espèces** de bactéries que comporte en moyenne le microbiote d'un individu sain, une moitié est communément retrouvée d'un individu à l'autre. Il existerait d'ailleurs un **socle commun de 15 à 20 espèces** en charge des fonctions essentielles du microbiote

# Le microbiote intestinal

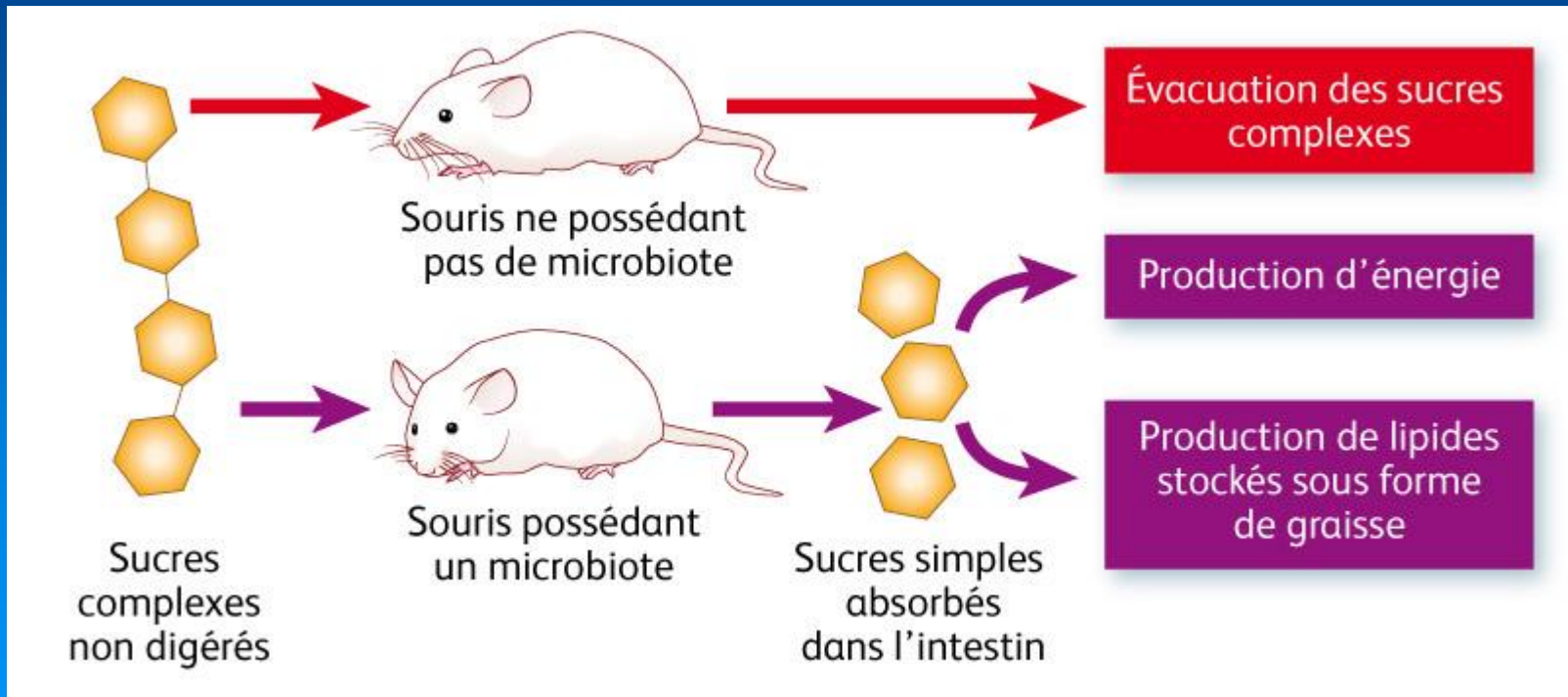
Le microbiote intestinal assure son propre métabolisme en puisant dans nos aliments (notamment parmi les fibres alimentaires). Dans le même temps, ses micro-organismes jouent **un rôle direct dans la digestion** :



- Ils assurent la fermentation des substrats et des résidus alimentaires non digestibles
- ils facilitent l'assimilation des nutriments grâce à un ensemble d'enzymes dont l'organisme n'est pas pourvu
- ils assurent l'hydrolyse de l'amidon, de la cellulose, des polysaccharides
- ils participent à la synthèse de certaines vitamines (vitamine K, B12, B8)
- ils régulent plusieurs voies métaboliques : absorption des acides gras, du calcium, du magnésium...

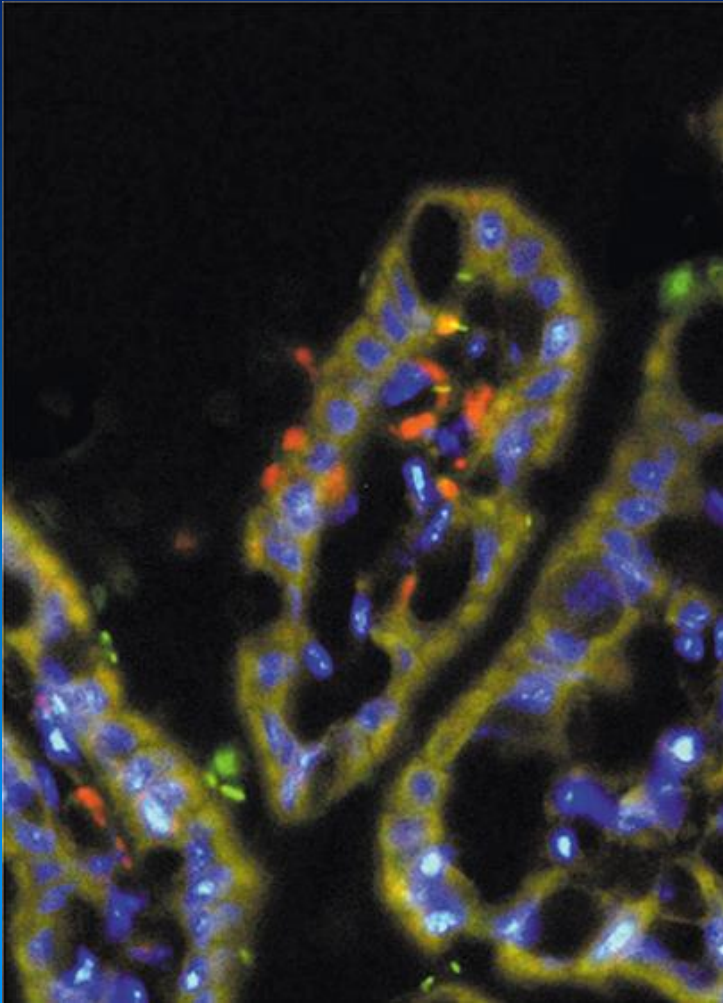
Des animaux sans microbiote (**axéniques**) ont des besoins énergétiques 20 à 30% fois supérieurs.

# Le microbiote intestinal





# Le microbiote intestinal et l'obésité



Une augmentation des **graisses dans l'alimentation** habituelle augmente la proportion des bactéries à Gram négatif. Par conséquent, elle augmente la présence de **LPS inflammatoires** au niveau local puis, après passage des LPS dans la circulation sanguine, dans le foie, les tissus adipeux, musculaires... L'inflammation à bas bruit qui s'installe dans ces tissus de façon chronique favorise **l'insulinorésistance préalable au diabète et à l'obésité**.

Chez la souris axénique, l'implantation de microbiote provenant de souris obèses provoque d'ailleurs rapidement une prise de poids importante.

**Bleu: cellules épithéliales intestinales**

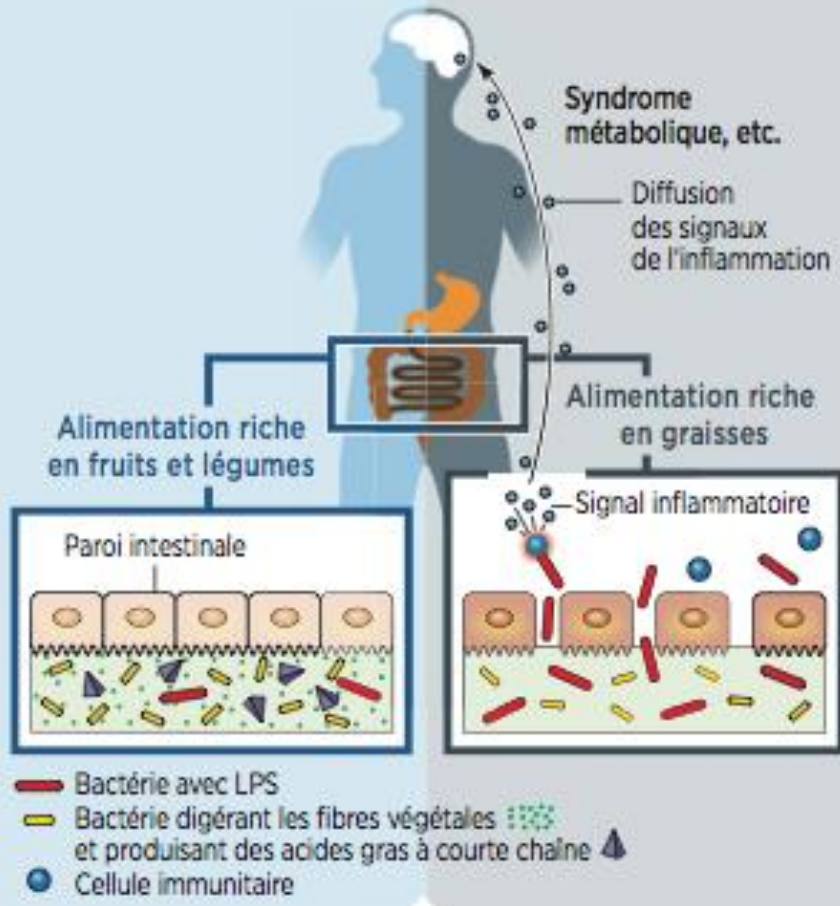
**Vert: Bactéries**

**Rouge: cellules immunitaires**



# Le microbiote intestinal et l'obésité

## Des bactéries stressantes

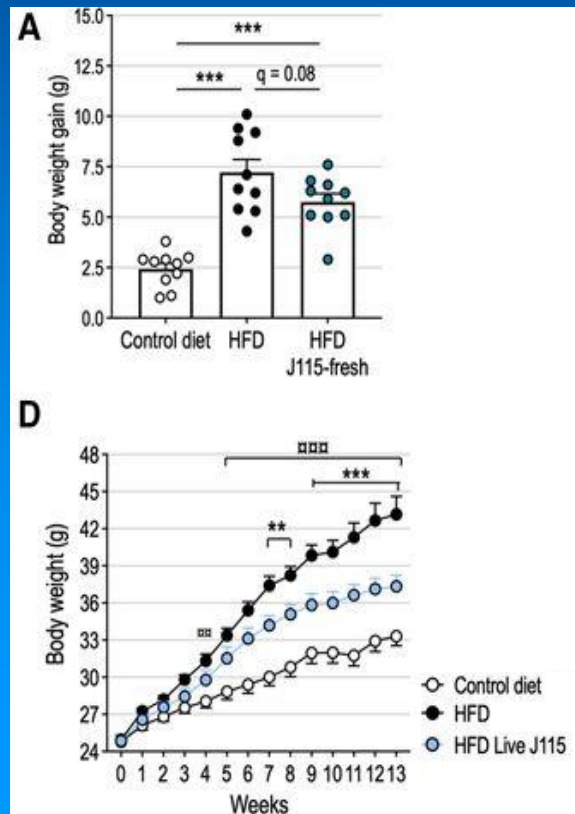
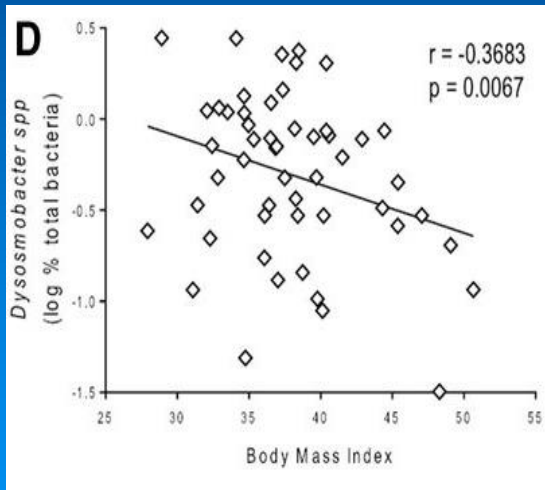
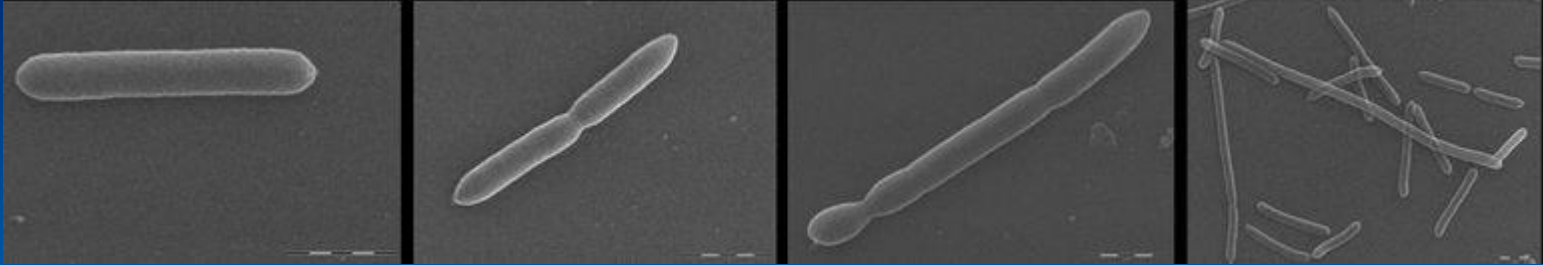


Outre le LPS, l'augmentation de la **perméabilité épithéliale** pourrait laisser **passer des bactéries entières**. Leur implantation durable au niveau des tissus adipeux, musculaires et hépatiques favoriserait le maintien *in situ* de l'inflammation.

Certains **métabolites bactériens** circulants auraient un rôle déterminant dans le mécanisme de régulation de la pression artérielle par le rein, ou dans le développement de la plaque d'athérome.

# Perspectives thérapeutiques

## *Dysosmobacter welbionis*



Bactérie administrée



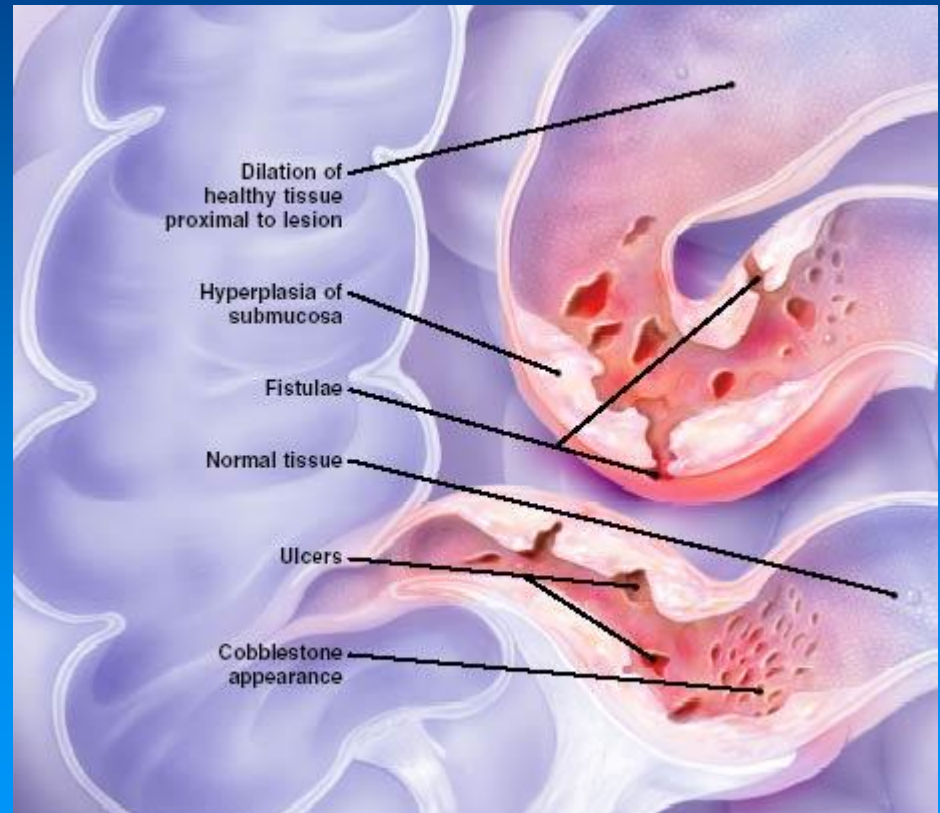
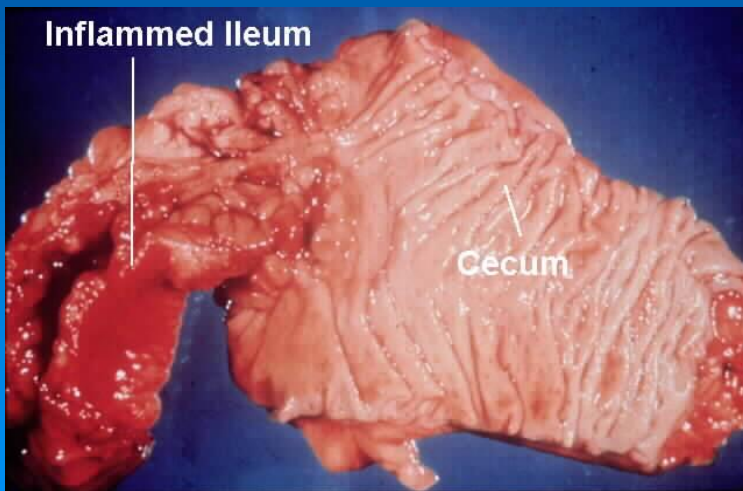
Lipolyse

Cytokines pro-inflammatoires

Glycémie améliorée



# *La maladie de Crohn*

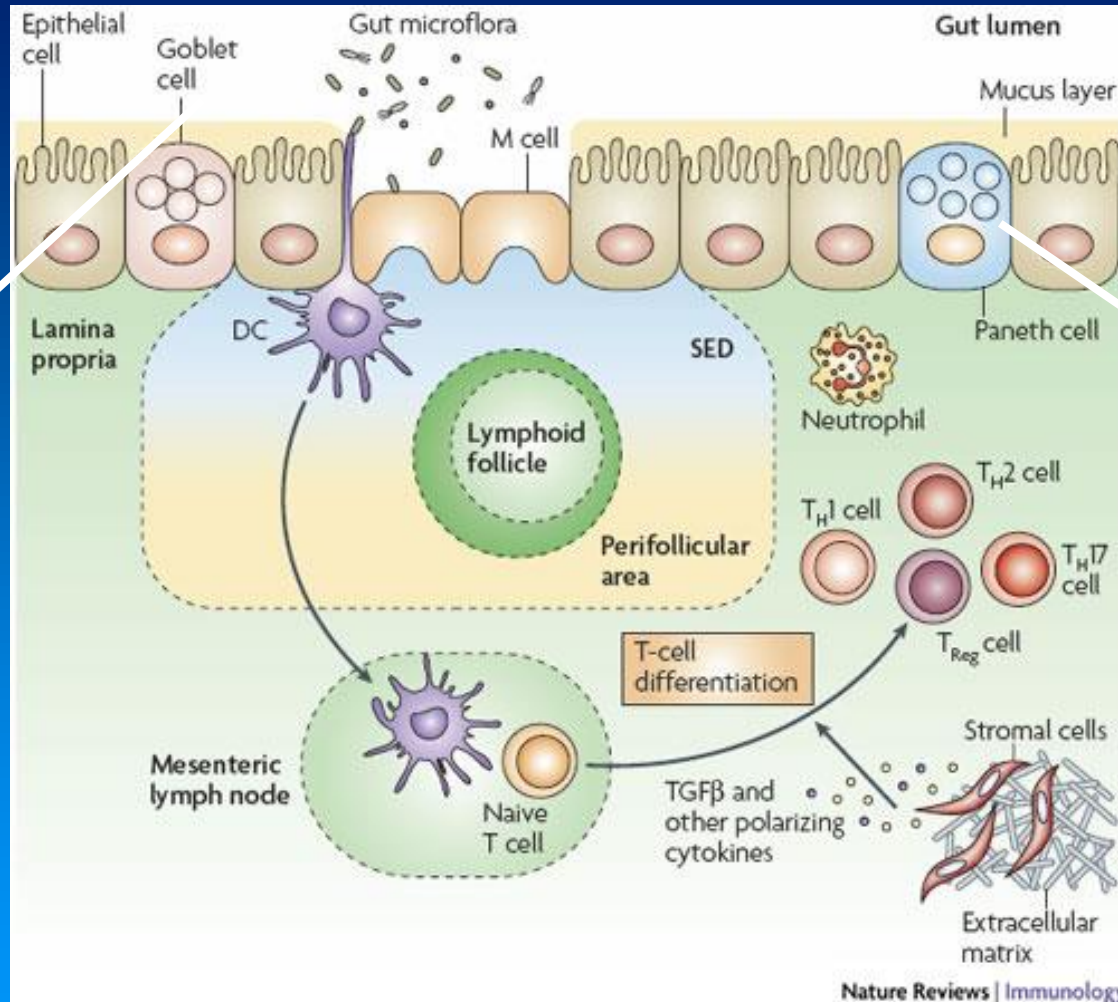




# *Origines de la maladie de Crohn*

- . Causes exactes peu connues
  - . Incidence augmente avec le degré d'industrialisation: *Listeria* et *yersinia* présents dans les frigos pour le stockage des aliments?
  - . Combinaison entre des facteurs **génétiques** et **environnementaux**
- Risque de 10 à 25 % de développer la maladie si un parenté de premier degré est atteint**
- . Implication potentielle de micro-organismes exogènes et pathogènes
  - . Réaction immuno-inflammatoire incontrôlée contre des éléments de la flore intestinale
  - . Une colonisation intestinale par des parasites pourrait jouer un rôle protecteur.

# Mécanismes de la maladie de Crohn

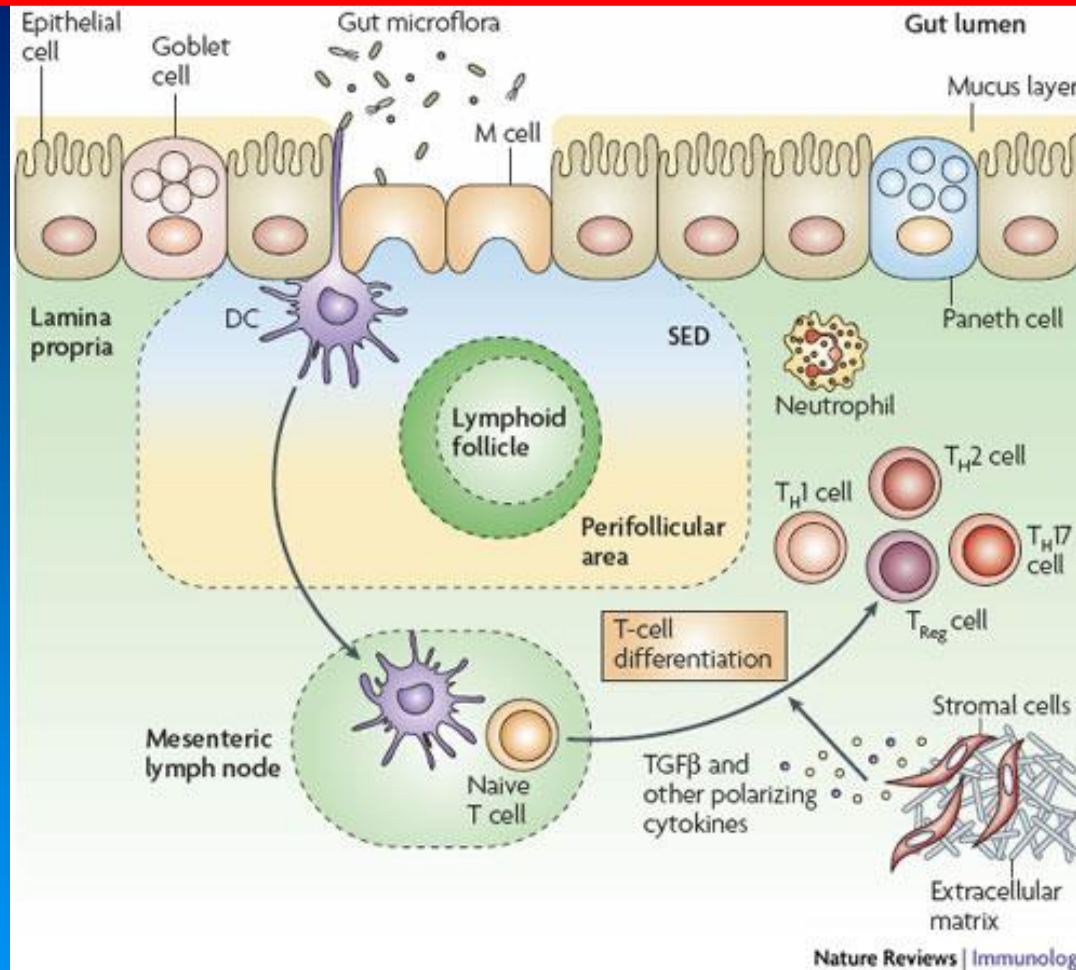


Secrète le mucus protecteur

Secrète des peptides anti-microbiens (défensines, ...)

Le challenge du système immunitaire intestinal est d'assurer une balance entre la réponse aux pathogènes d'une part et de coexister avec les **bactéries commensales** et le bol alimentaire d'autre part.

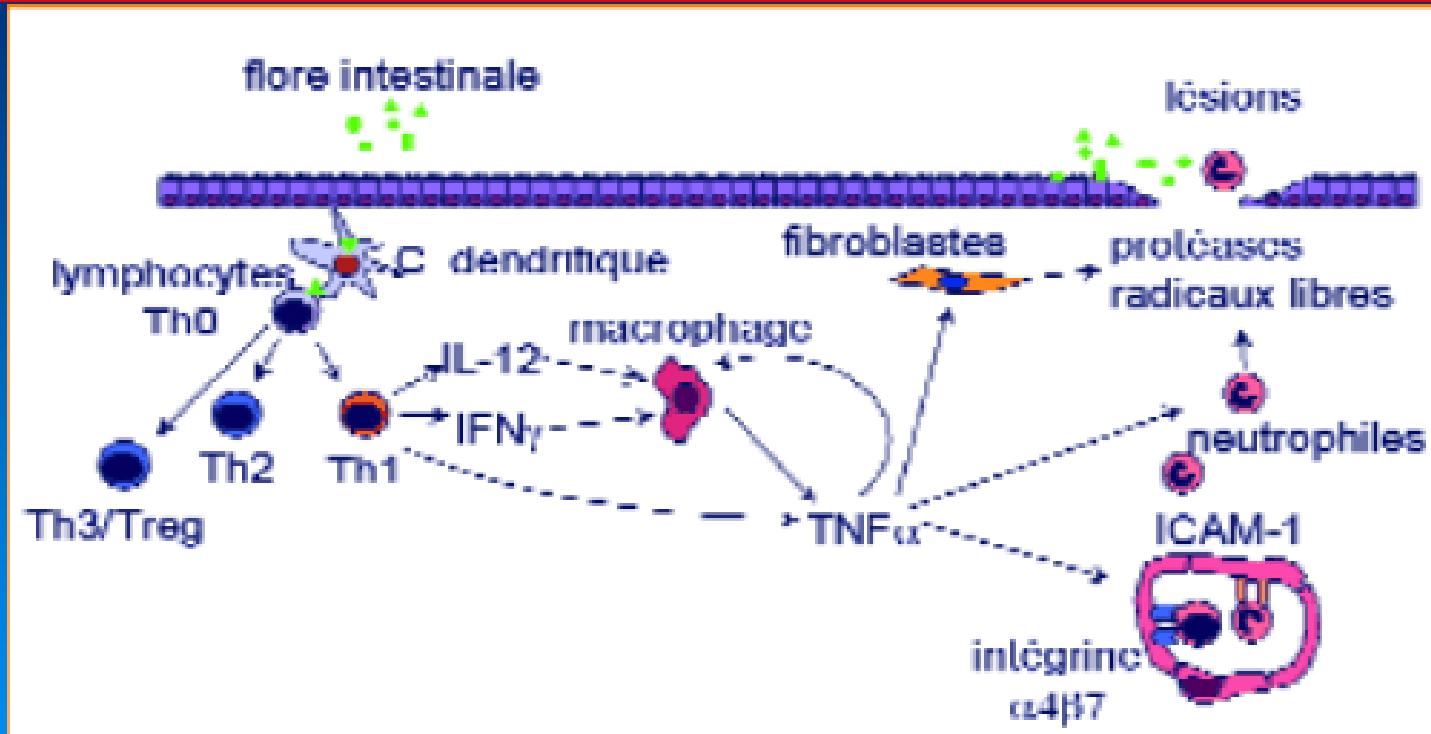
# Mécanismes de la maladie de Crohn



Les cellules immunitaires ne sont séparées des bactéries du lumen que par une couche unicellulaire épithéliale. Les **cellules M** et les **cellules dendritiques** interviennent dans la détection des pathogènes. La présence de ceux-ci ou une destruction de la barrière épithéliale entraîne l'activation et la migration des cellules dendritiques vers les ganglions lymphatiques mésentériques où elles vont activer les lymphocytes T naïfs lesquels vont se différencier en cellules T effectrices (Th1, Th2) ou régulatrices sous l'influence de facteurs libérés par ces cellules dendritiques et par les cellules du stroma.

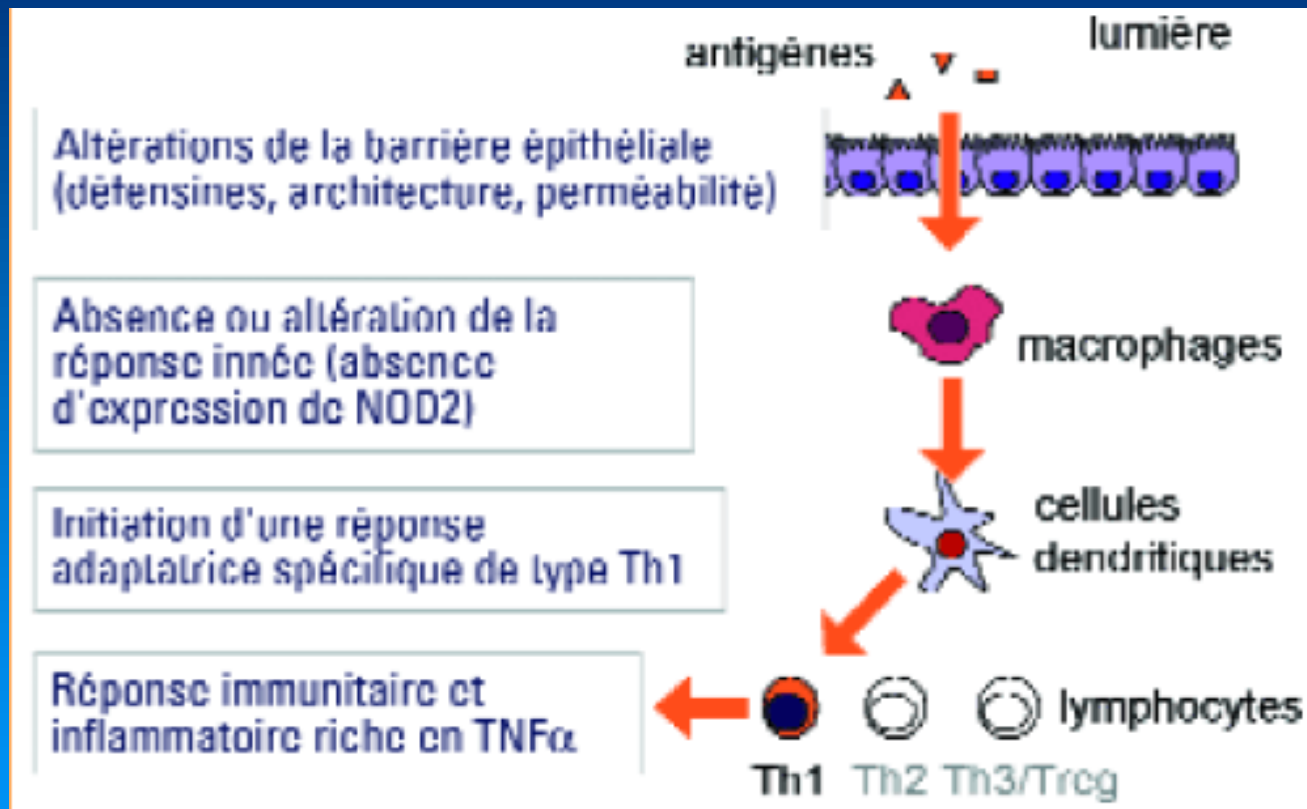


# Cascade inflammatoire et maladie de Crohn



Différenciation des lymphocytes Th vers un phénotype Th1 avec production d'interféron  $\gamma$  et d'IL12 et de TNF $\alpha$ . Cette réponse entraîne une stimulation des macrophages ainsi que l'initiation de la cascade inflammatoire liée au TNF $\alpha$  avec stimulation des cellules endothéliales, expression accrue d'adresses vasculaires, recrutement de cellules pro-inflammatoires menant finalement à la genèse de lésions de la muqueuse, ce qui augmente encore l'exposition du système immunitaire aux antigènes bactériens. Il y a donc établissement d'un cycle inflammatoire. La prédominance de la réponse Th1 prévient également la production de cellules Treg qui pourraient réguler la réponse pro-inflammatoire.

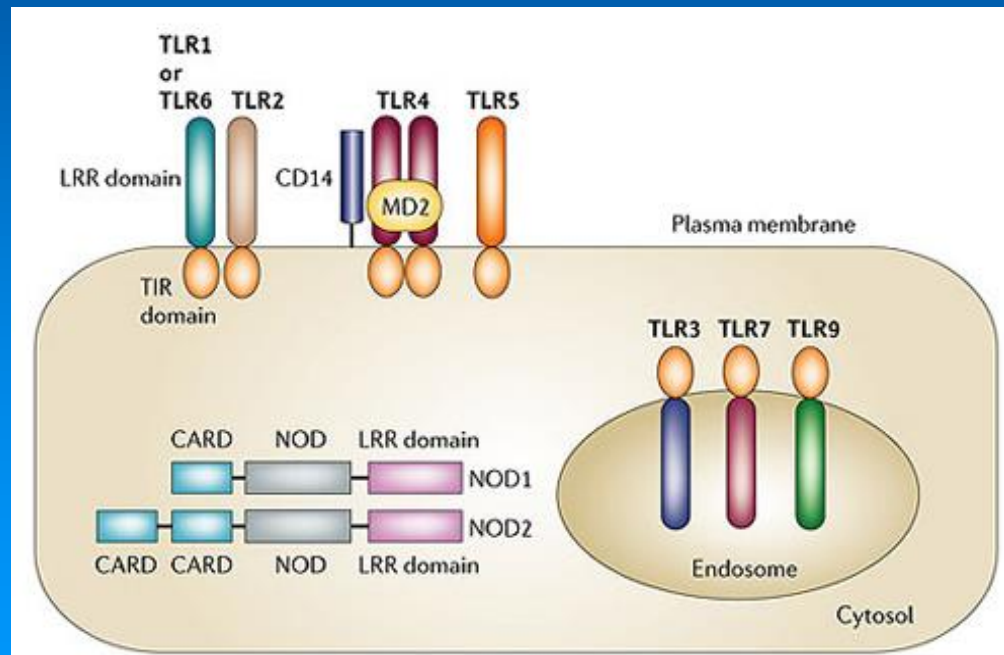
# Cascade inflammatoire et maladie de Crohn



La déficience des premiers niveaux de défense de l'intestin entraîne la présentation d'antigènes de bactéries de la flore intestinale, normalement non invasives et non pathogènes, au système immunitaire adaptatif et la genèse d'une réponse spécifique pro-inflammatoire

# *Les prédispositions à la maladie de Crohn*

- . 25 à 40% des patients portent des mutations au niveau du gène **NOD2/CARD15**
- . Mutations d'autres gènes prédisposent également à cette pathologie



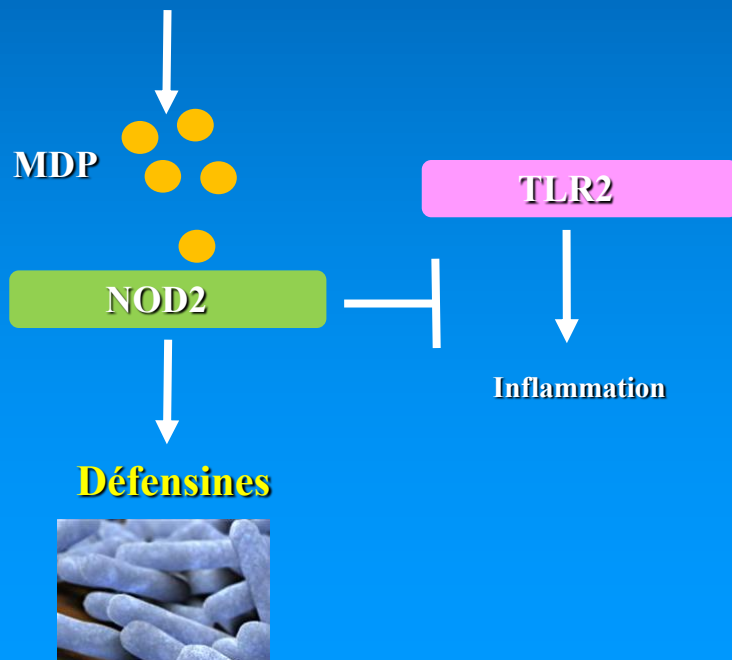
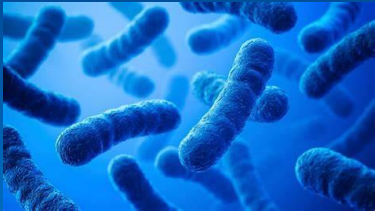
NOD2 est essentiellement exprimés dans les **macrophages** mais aussi dans les cellules **épithéliales** (cellules de Paneth) et les cellules **dendritiques**.



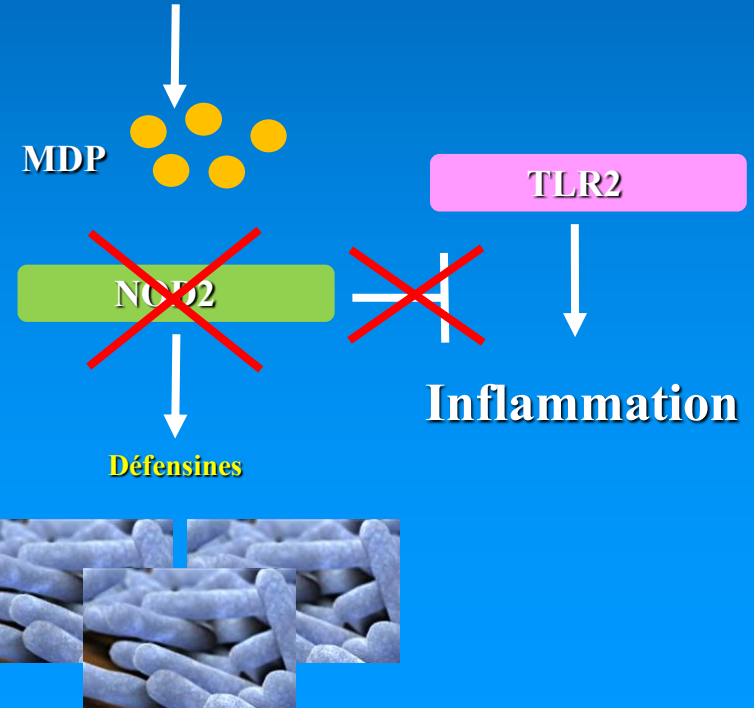
# Les prédispositions à la maladie de Crohn

## Individu sain

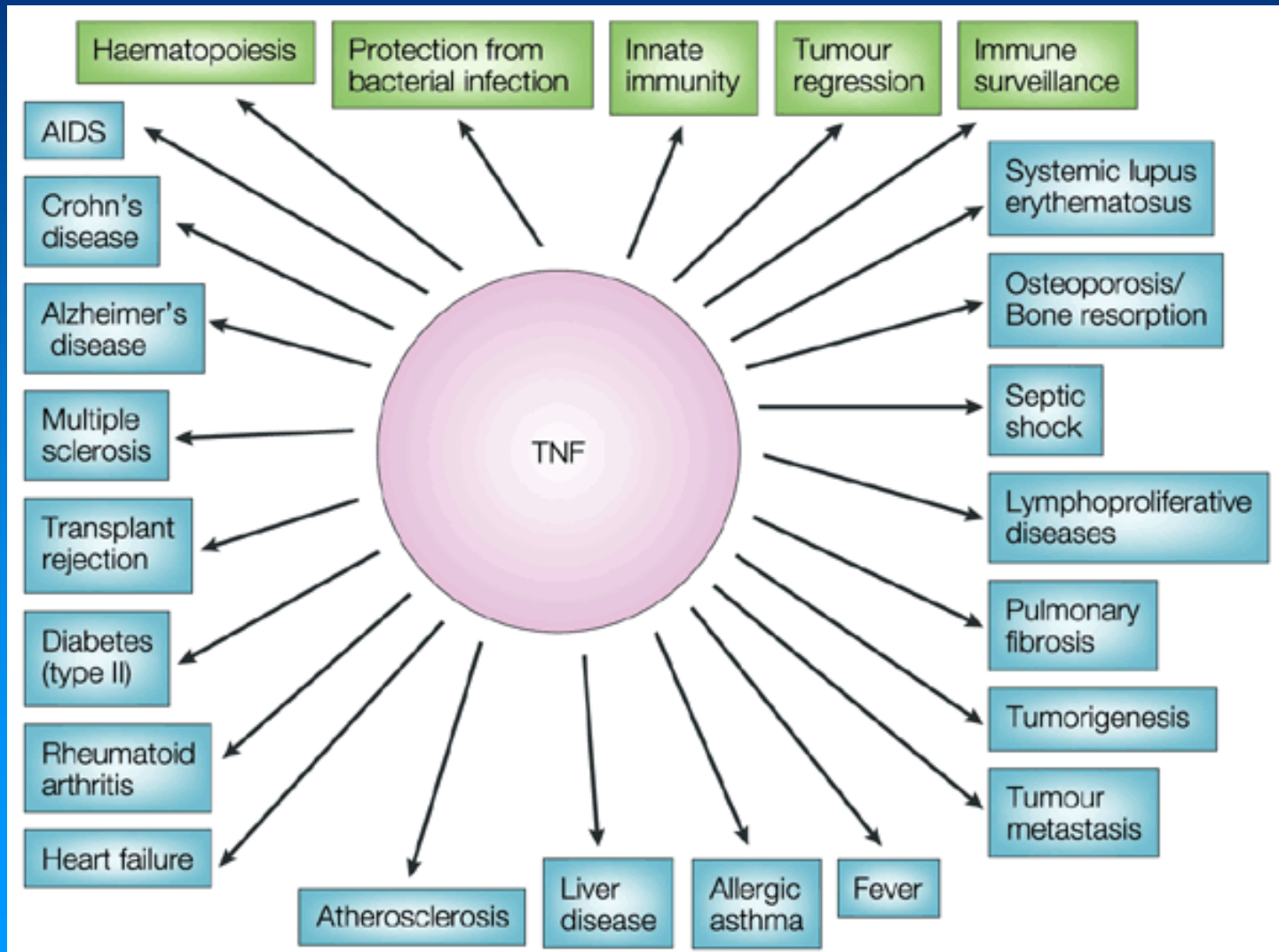
Bactéries



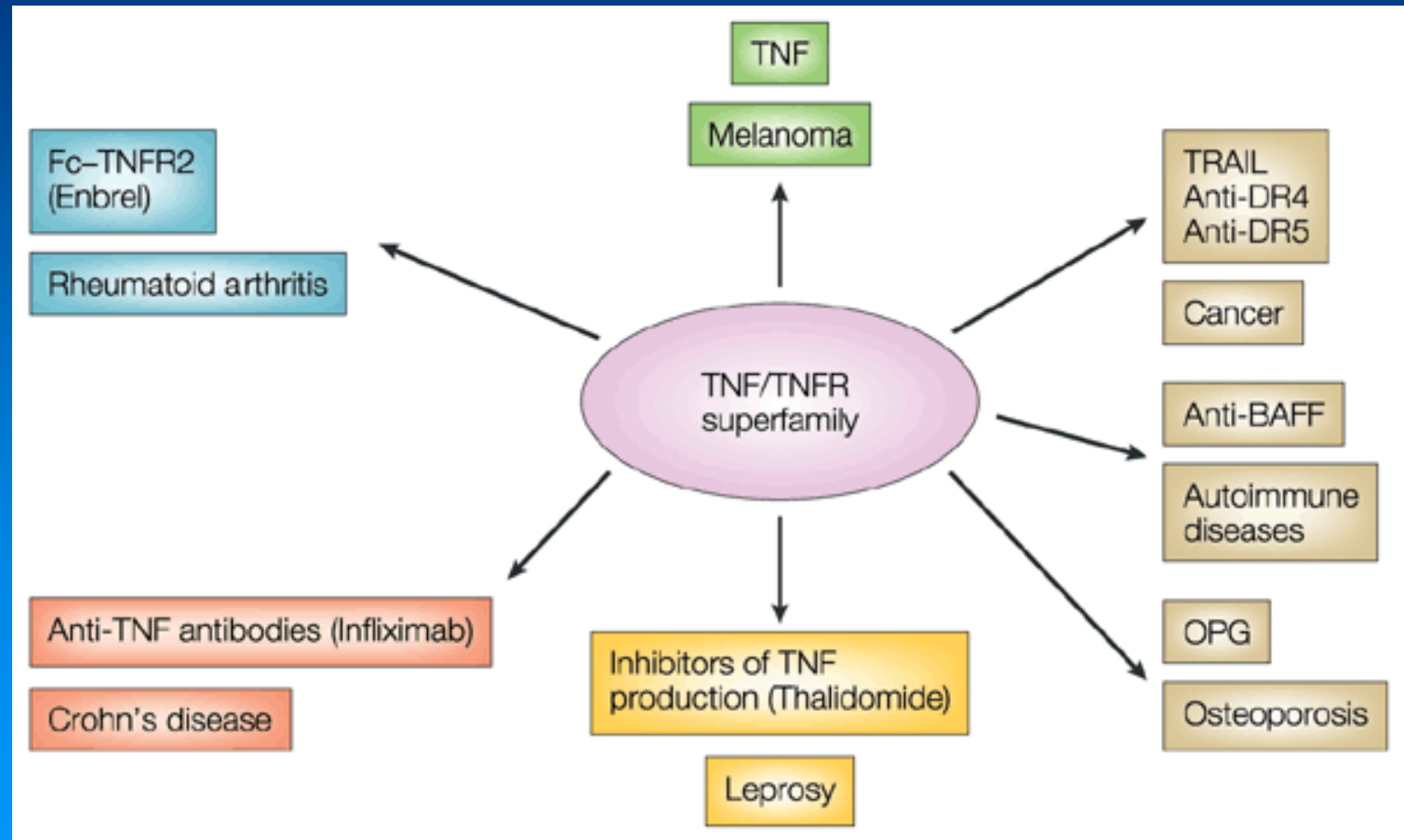
## Individu muté pour **NOD2**



# *Les thérapies anti-inflammatoires: le TNF comme cible*

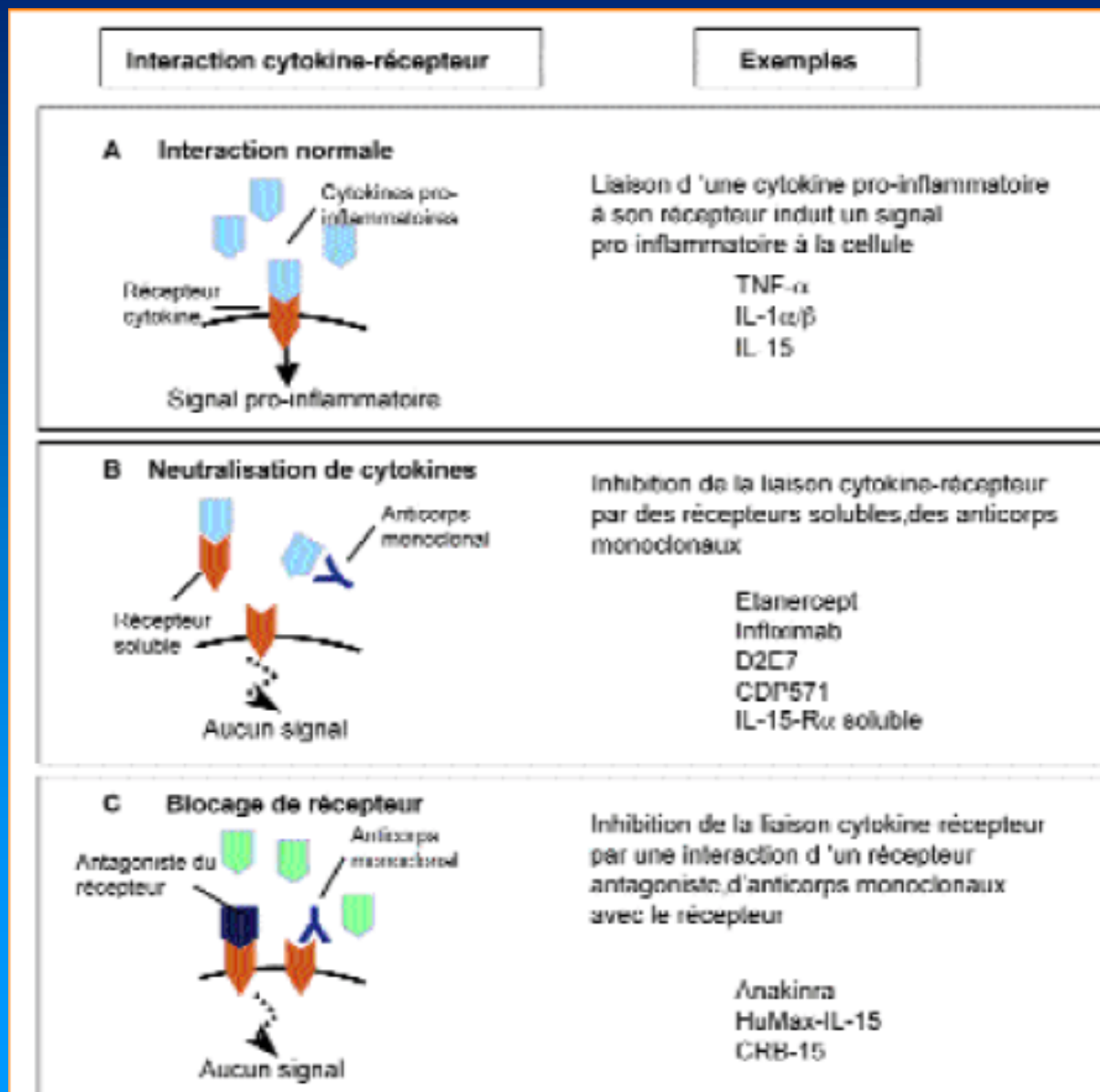


# *Les thérapies anti-inflammatoires: le TNF comme cible*

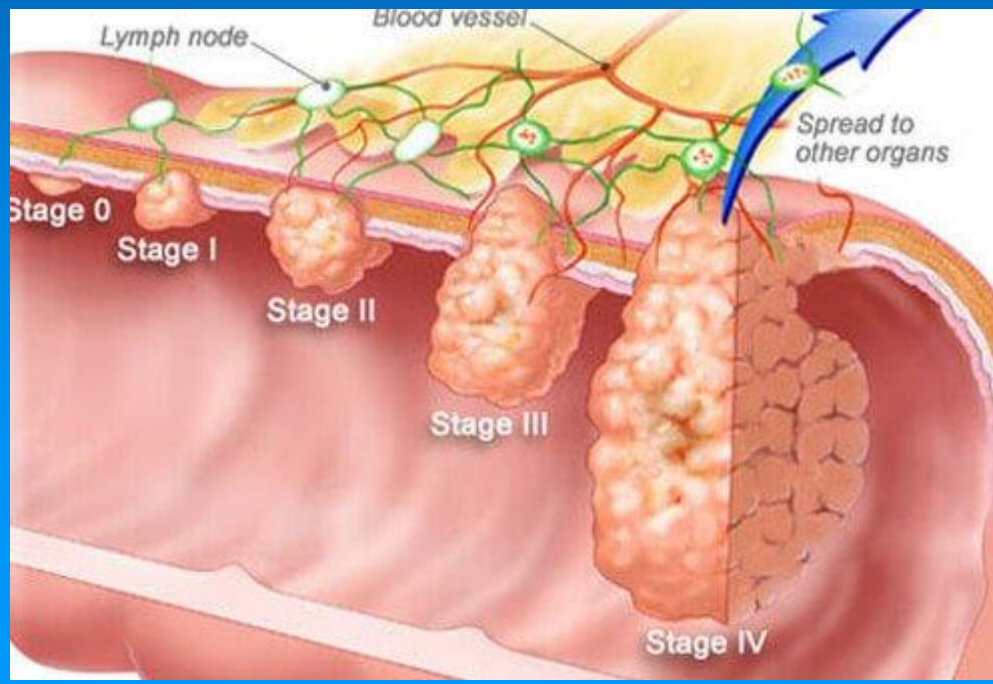
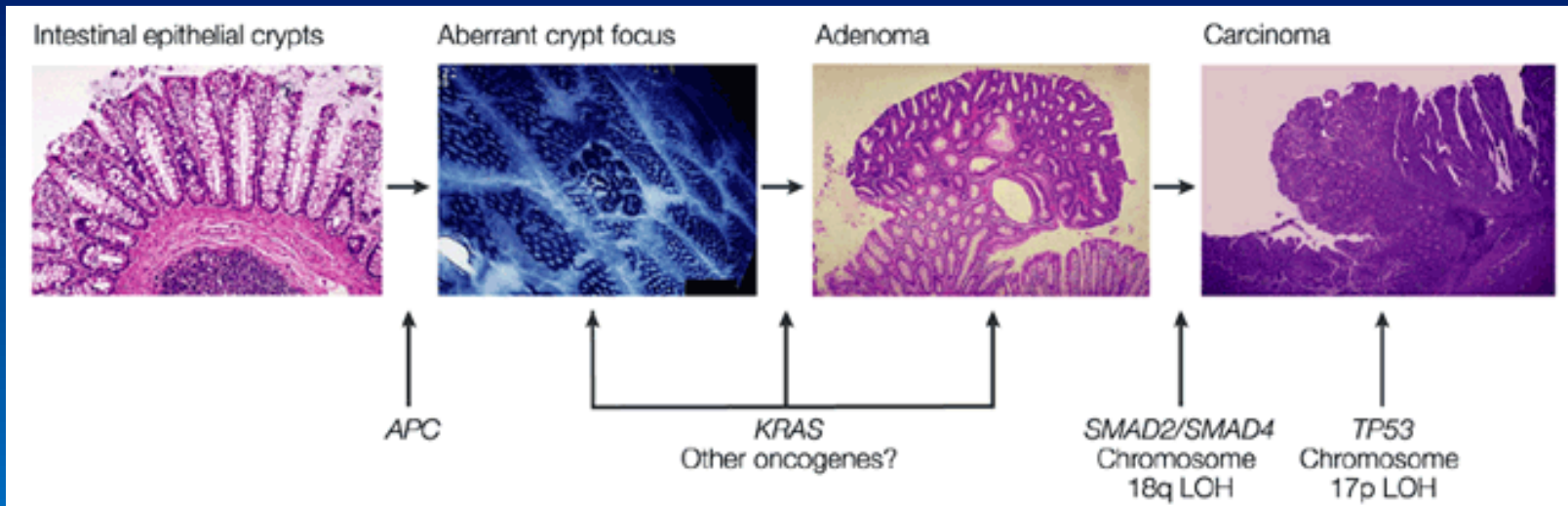




# Les thérapies anti-inflammatoires

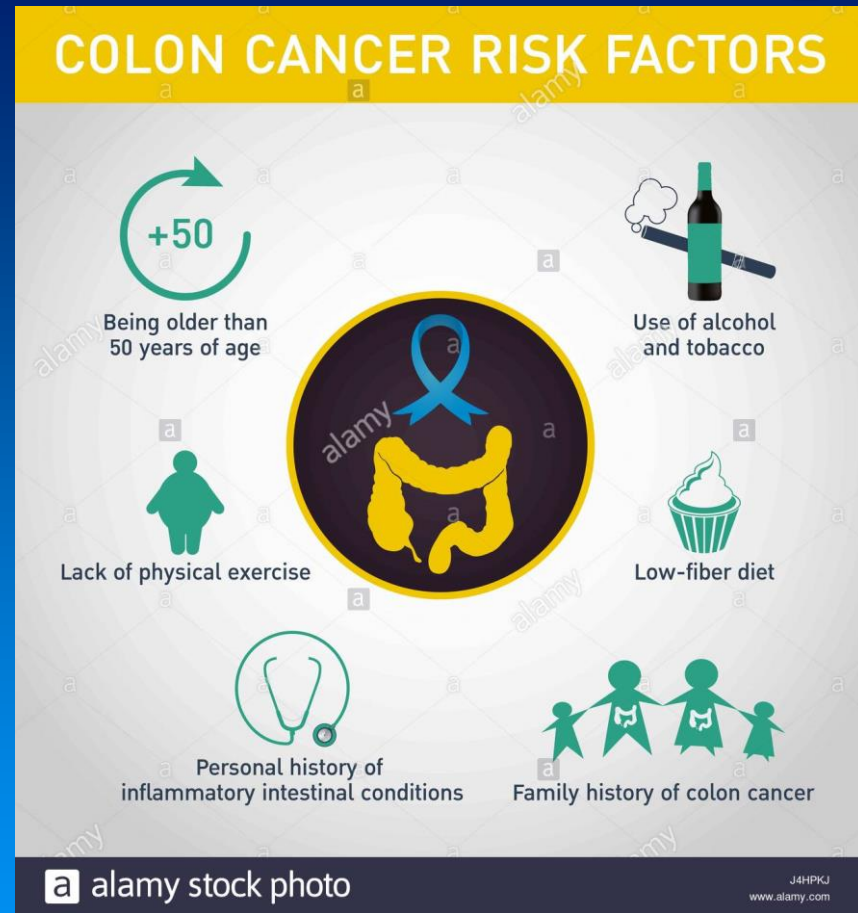


# Cancer du colon



# Cancer du colon: les facteurs de risque

- Age
- Habitudes de vie
- Présence de polypes
- Antécédents personnels
- Antécédents familiaux
- Syndrome de Lynch ou HNPCC
- Polypose adénomateuse familiale
- Maladies inflammatoires



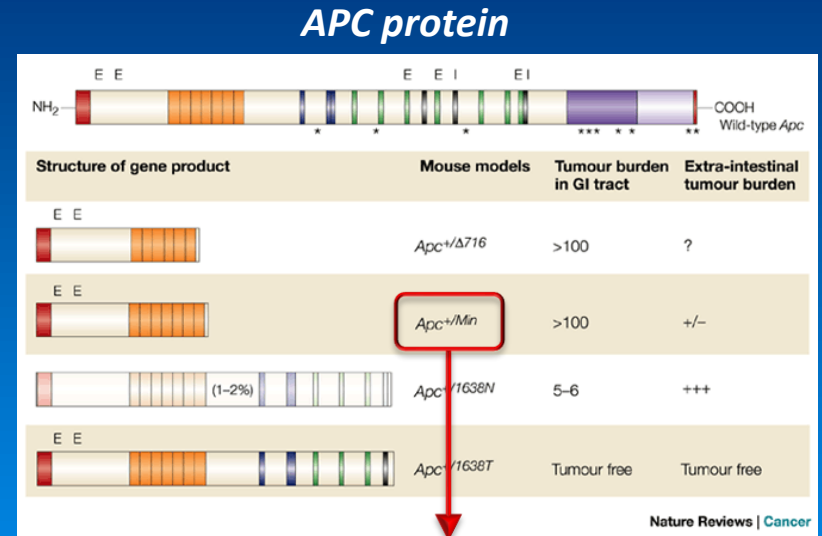
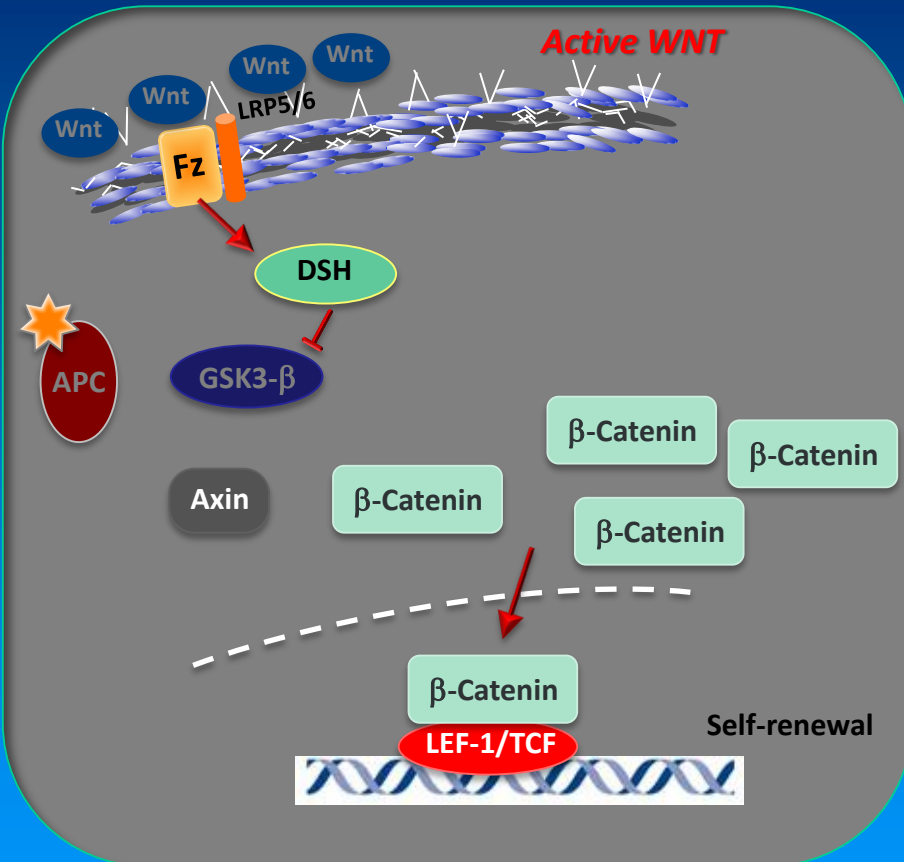


# La polypose familiale adénomateuse



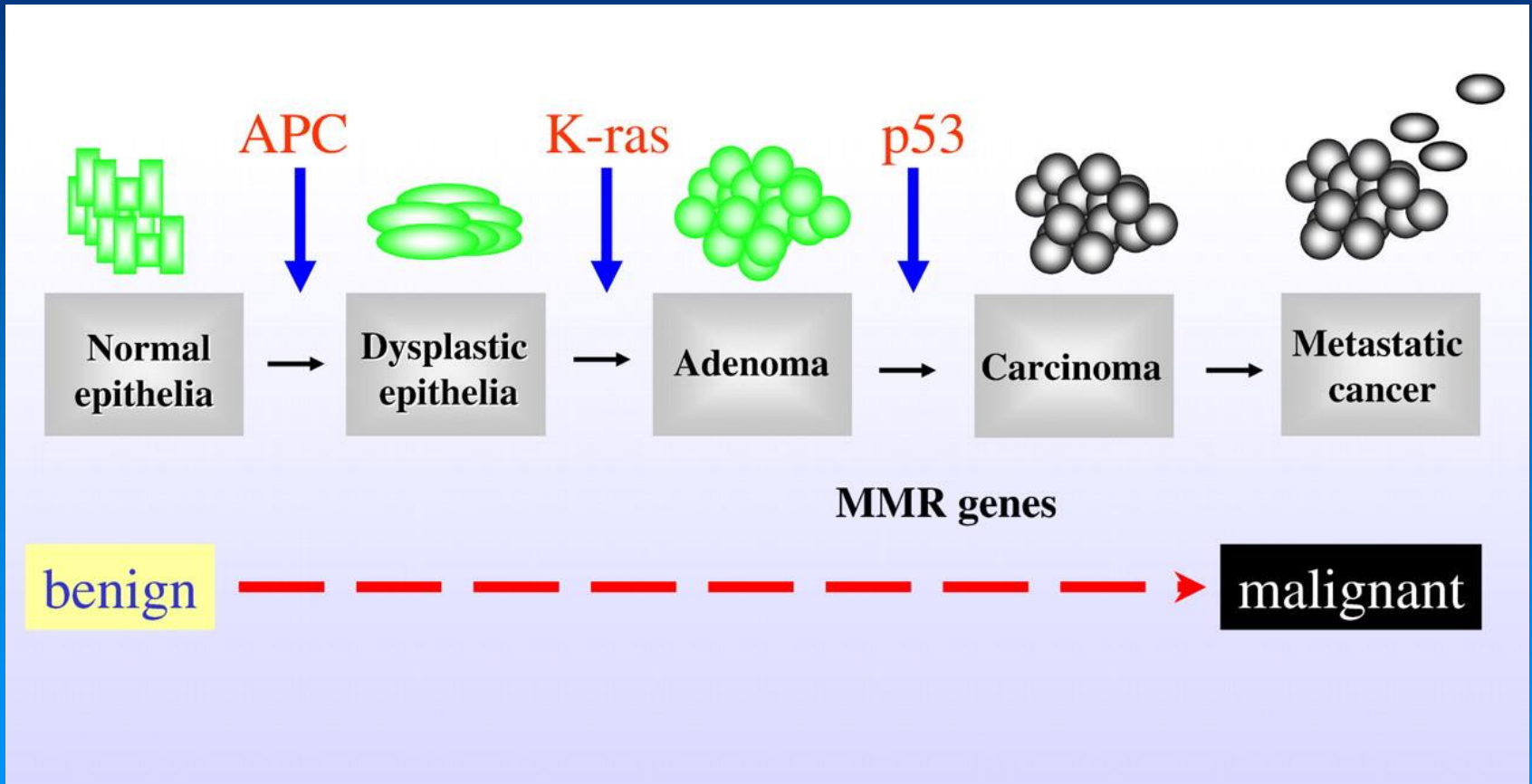
- . La polypose adénomateuse familiale (PAF) est une maladie héréditaire, autosomique dominante, à forte pénétrance.
- . La présence d'une mutation sur le gène APC entraîne quasi constamment l'apparition de tumeurs.
- . En l'absence de colectomie préventive, la cancérisation est inéluctable avant 40 ans.
- . La PAF est responsable de 1% des cancers colorectaux.
- . La recherche de la mutation délétère et une enquête familiale sont nécessaires dès qu'un cas de PAF a été reconnu.

# Cancer du colon: la voie Wnt



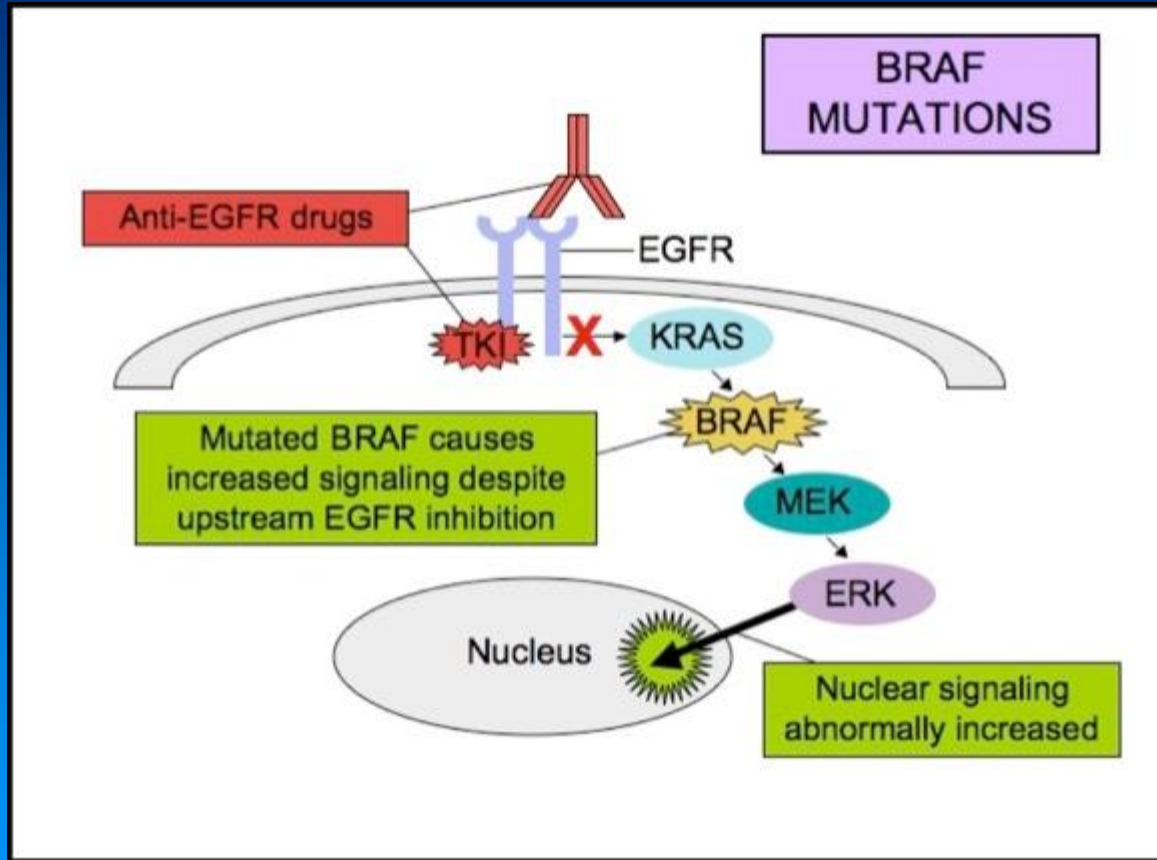
*Min = multiple intestinal neoplasia*  
*Formation spontanée d'adénomes intestinaux*

# Cancer du colon: la mutation p53

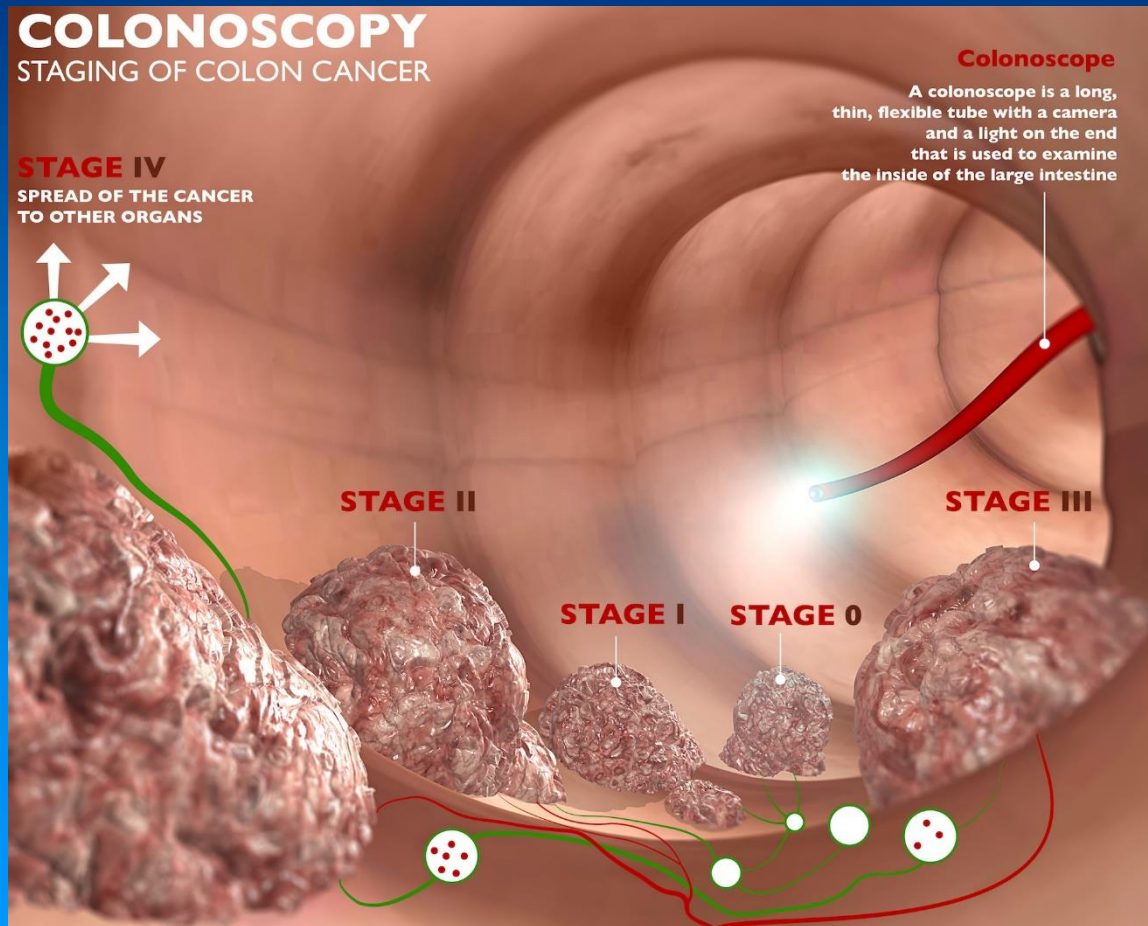




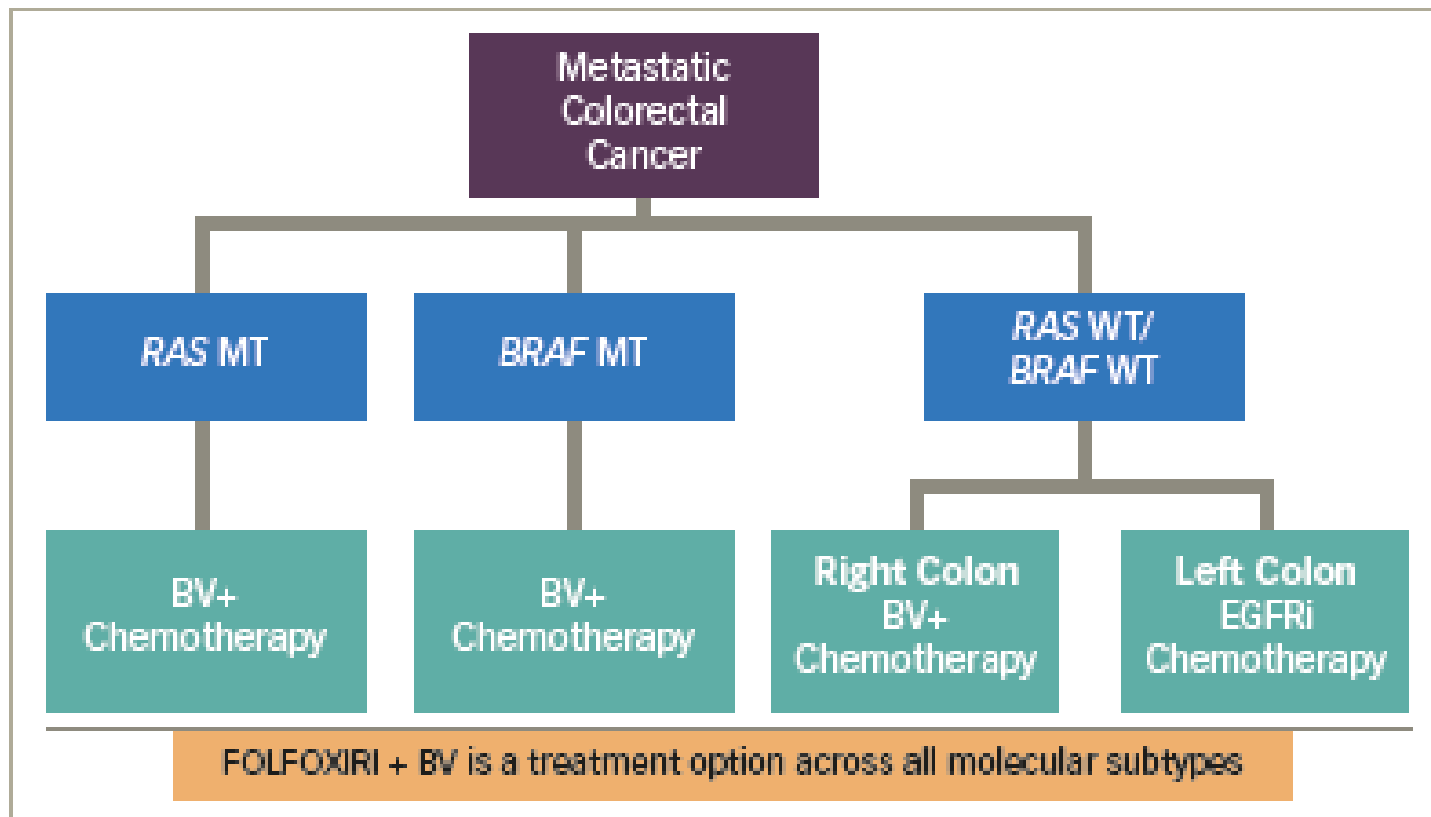
# Cancer du colon: la mutation K-Ras



# Thérapies pour le cancer colorectal



# Thérapies pour le cancer colorectal métastatique

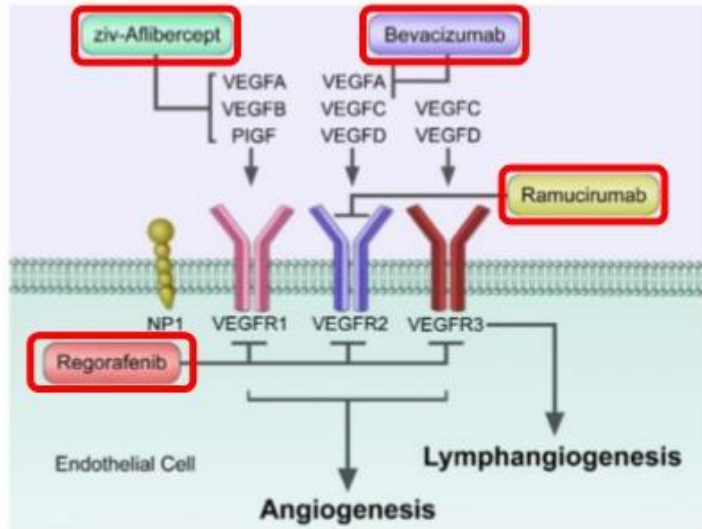


MT = mutated; WT = wild-type; BV = bevacizumab; EGFRi = epidermal growth factor receptor inhibitor (cetuximab or panitumumab); FOLFOXIRI = folinic acid, fluorouracil, oxaliplatin, irinotecan.

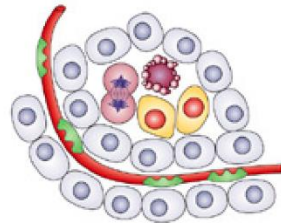


# Thérapies ciblées pour le cancer colorectal

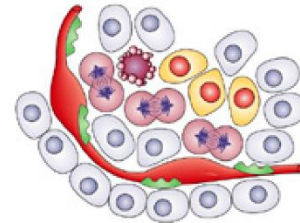
## Anti-Angiogenic Agents:



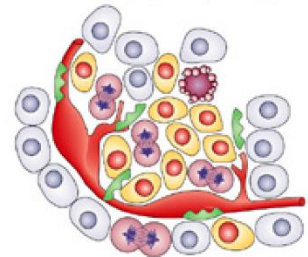
**a Dormant**



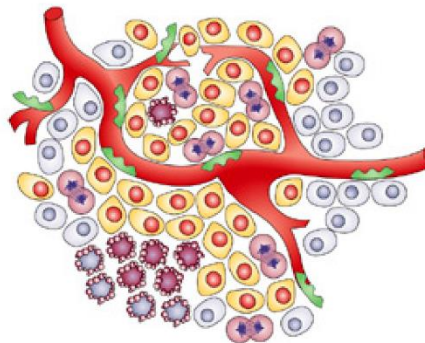
**b Perivascular detachment and vessel dilation**



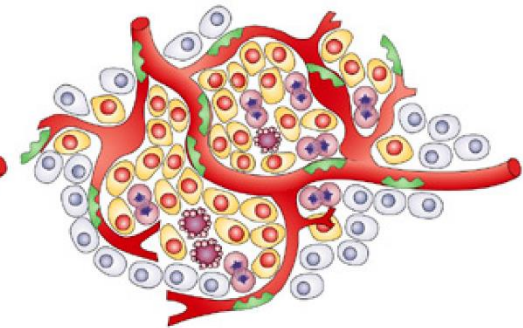
**c Onset of angiogenic sprouting**



**d Continuous sprouting; new vessel formation and maturation; recruitment of perivascular cells**



**e Tumour vasculature**



# *Les thérapies ciblées: le problème des résistances: l'exemple des thérapies anti-EGFR*



Lung cancer



Colon cancer



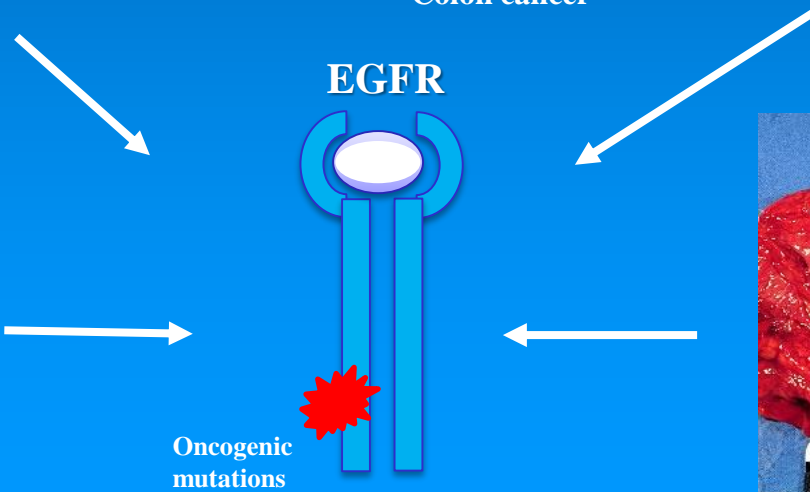
Glioblastomas



Head and neck cancer



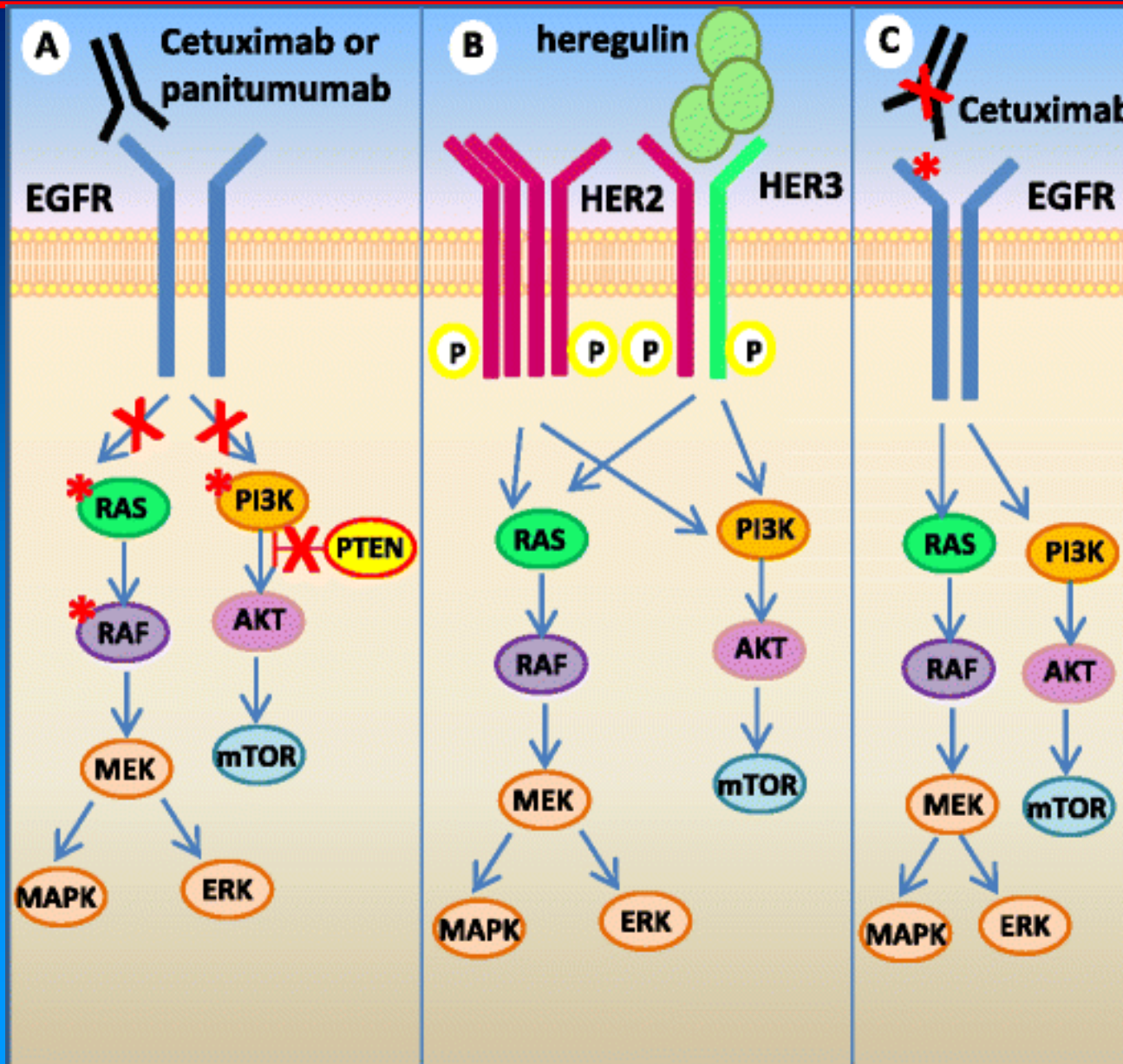
Pancreatic cancer



Oncogenic mutations

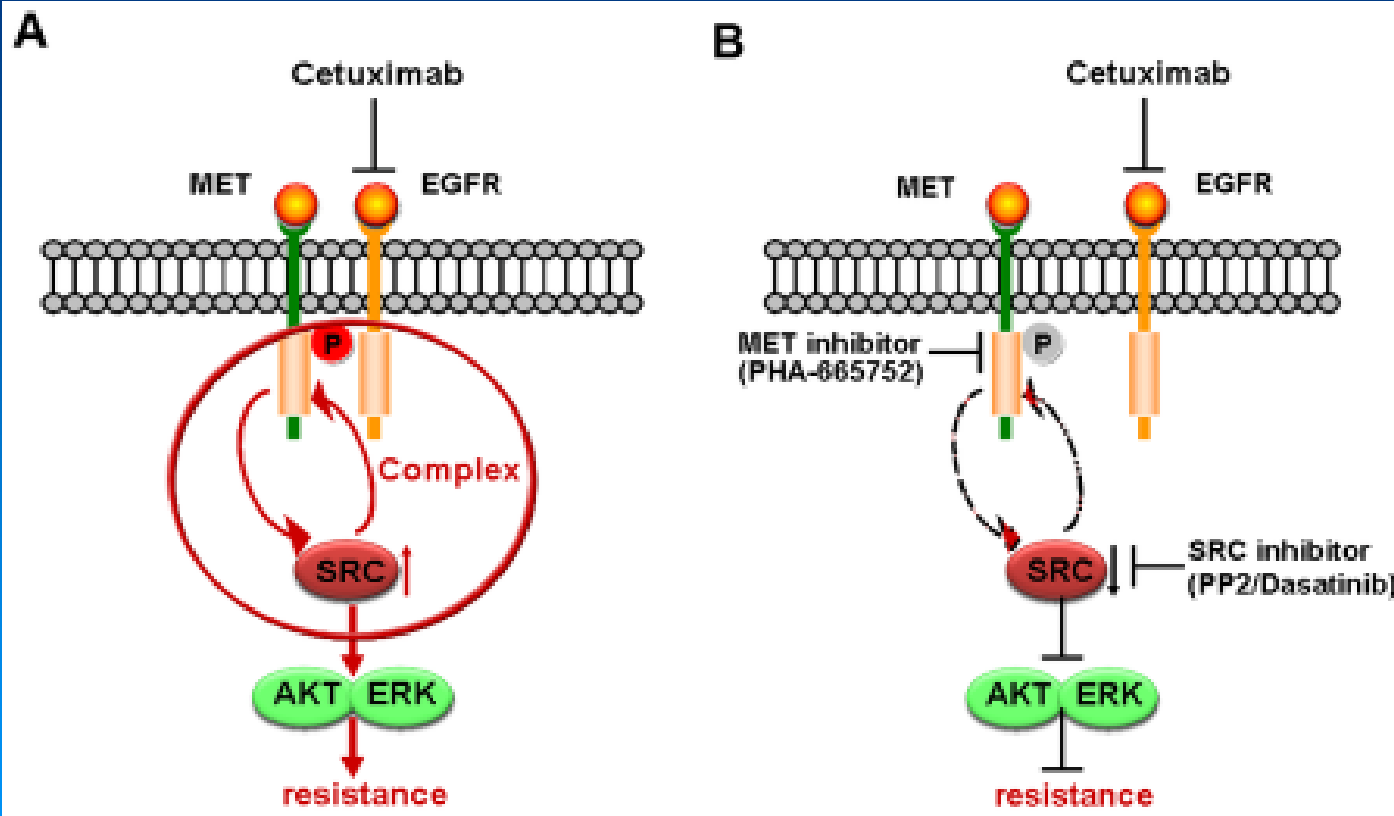


# Thérapies ciblées pour le cancer colorectal

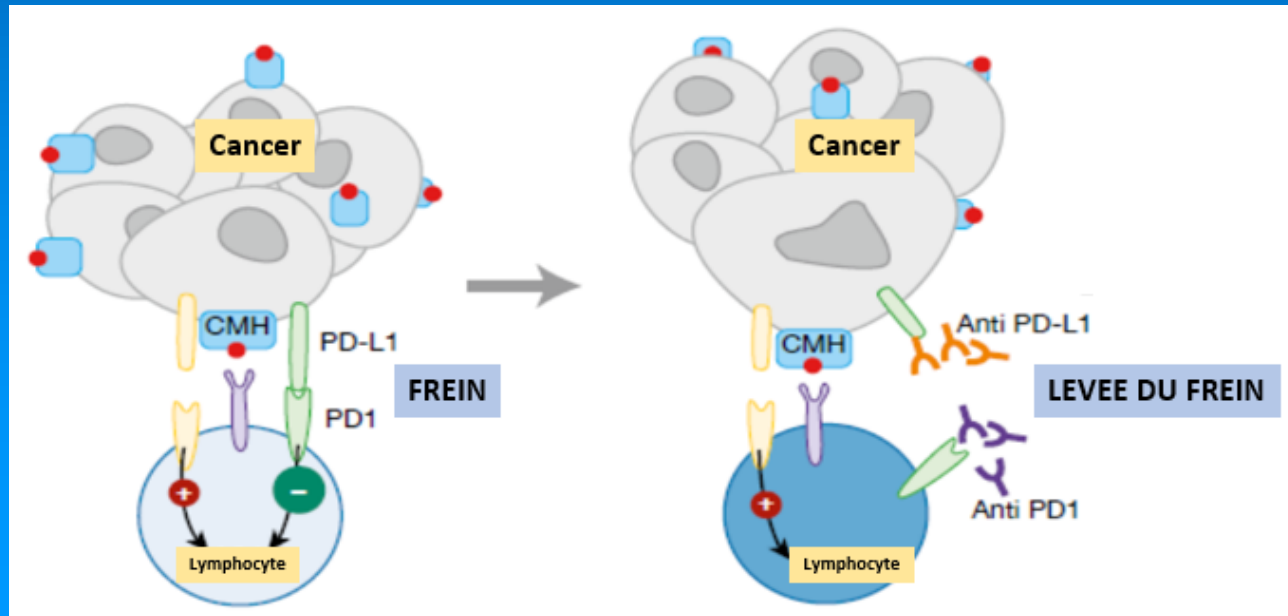
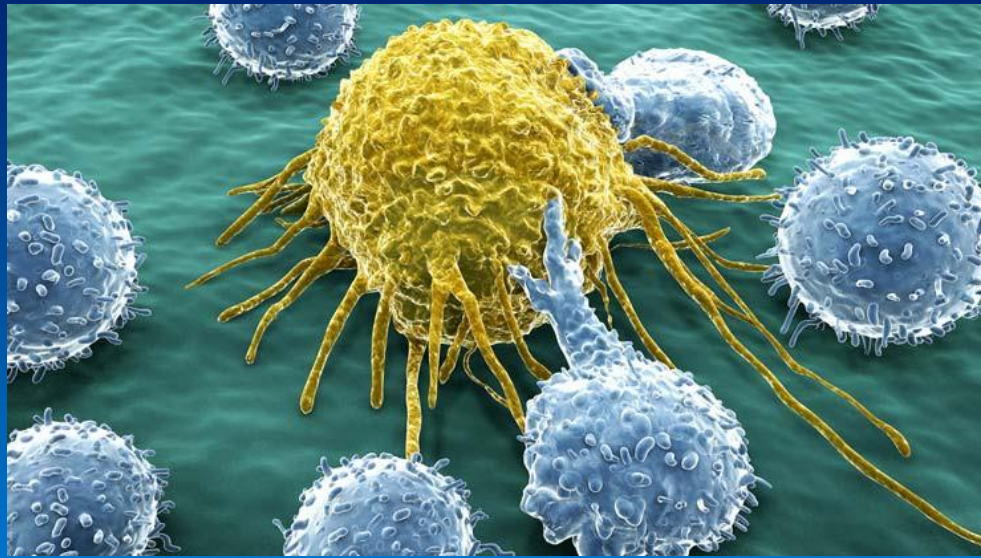




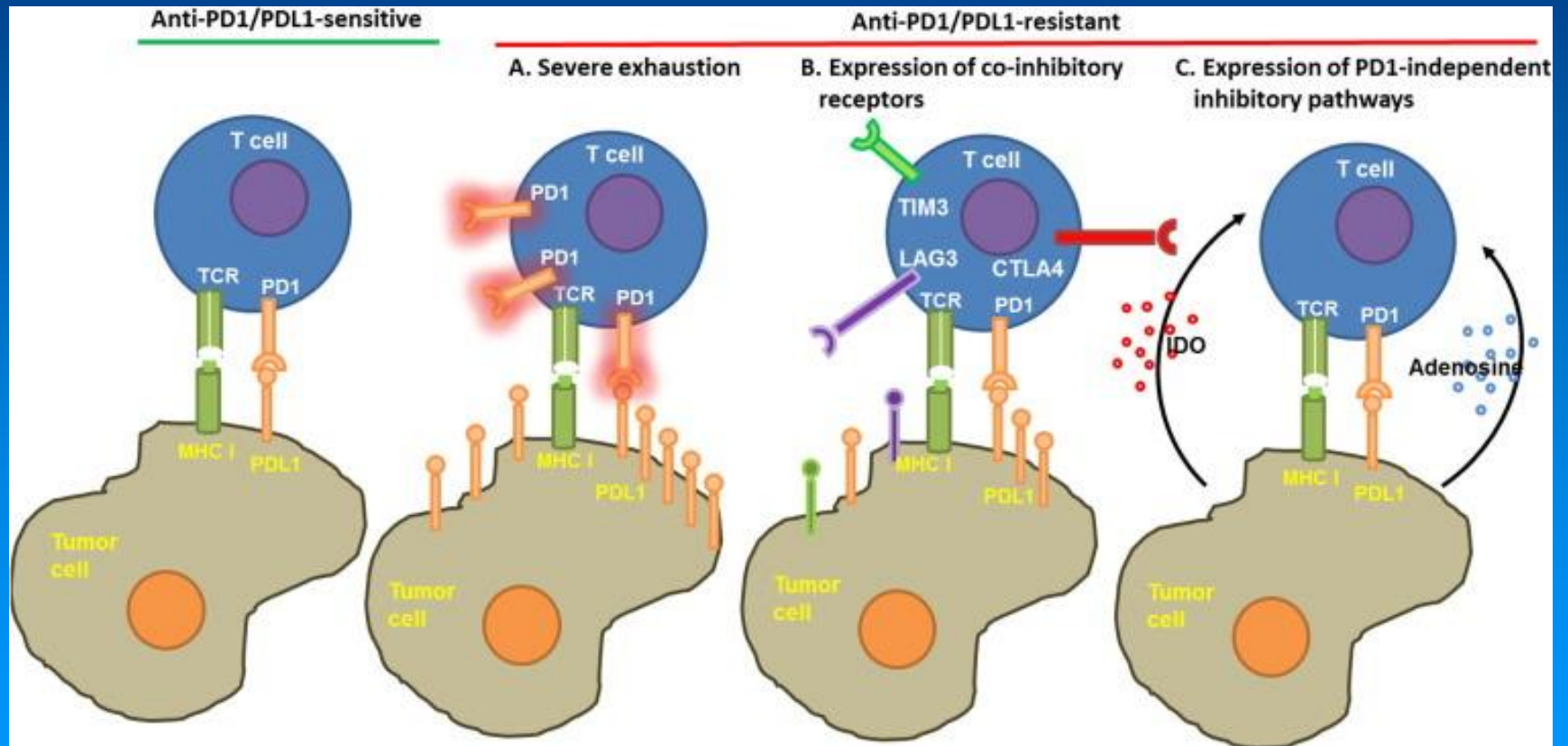
# Thérapies ciblées pour le cancer colorectal: le problème des résistances aux traitements



# *L'immunothérapie anti-cancéreuse*

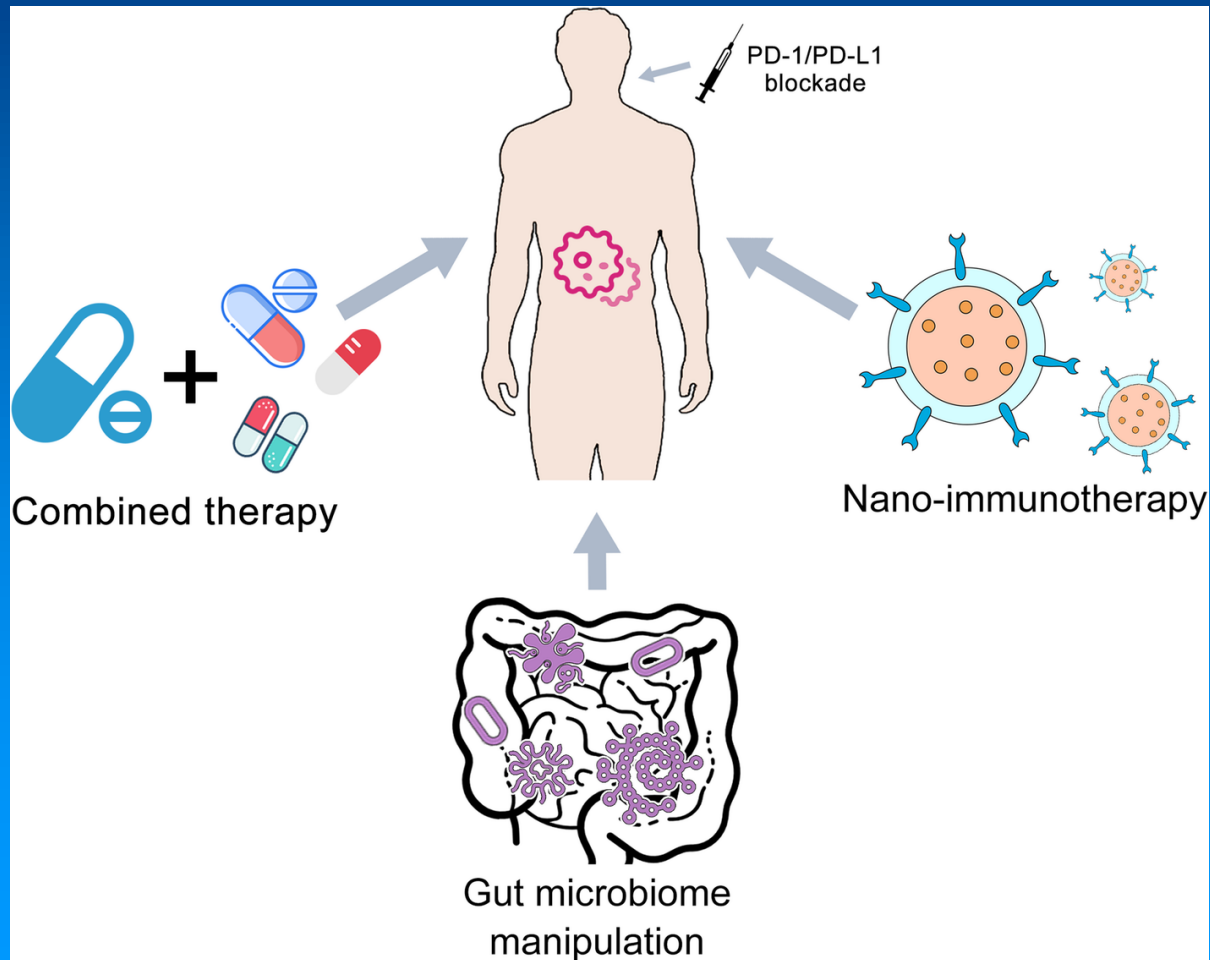


# *Les mécanismes de résistance à l'immunothérapie*

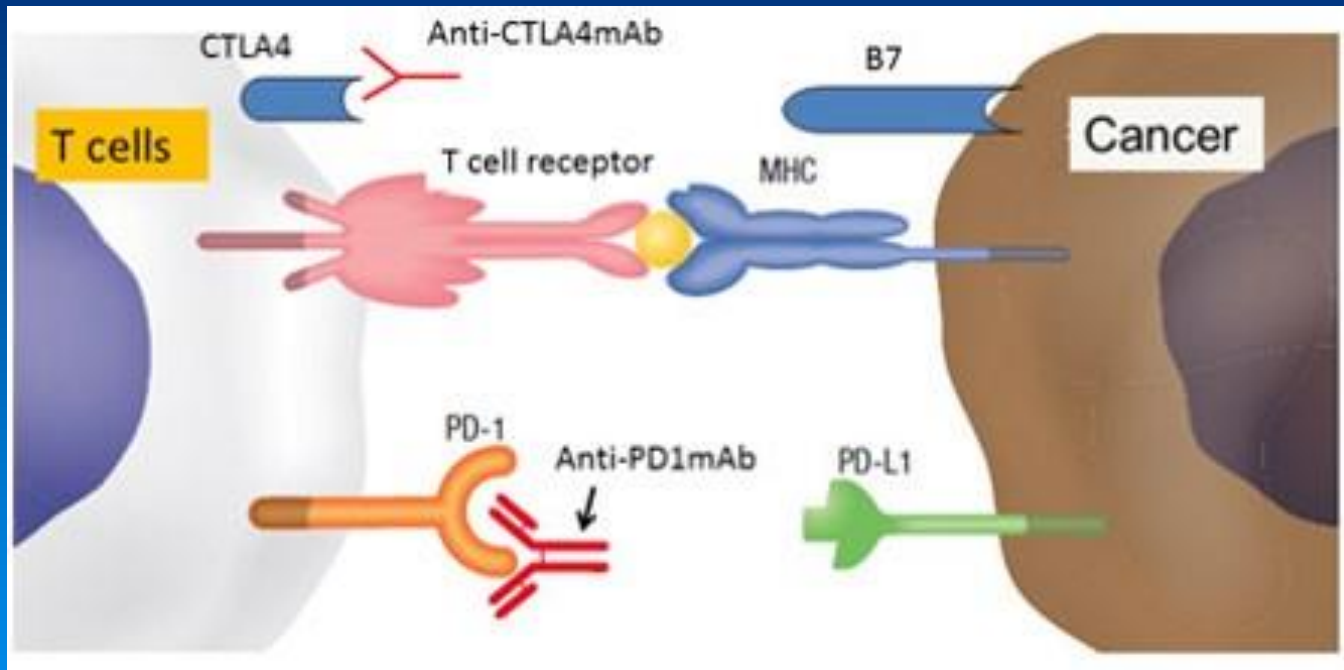




# *Les approches pour améliorer l'efficacité de l'immunothérapie anti-cancéreuse*

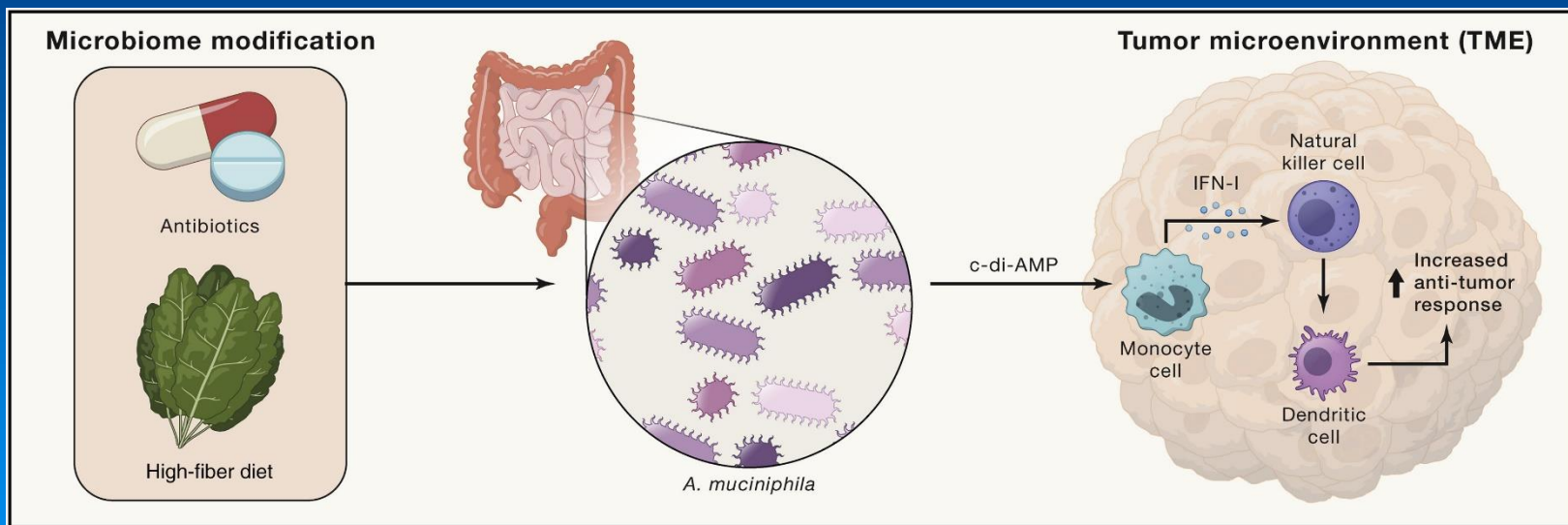


# Rôles du microbiote dans l'efficacité de l'immunothérapie



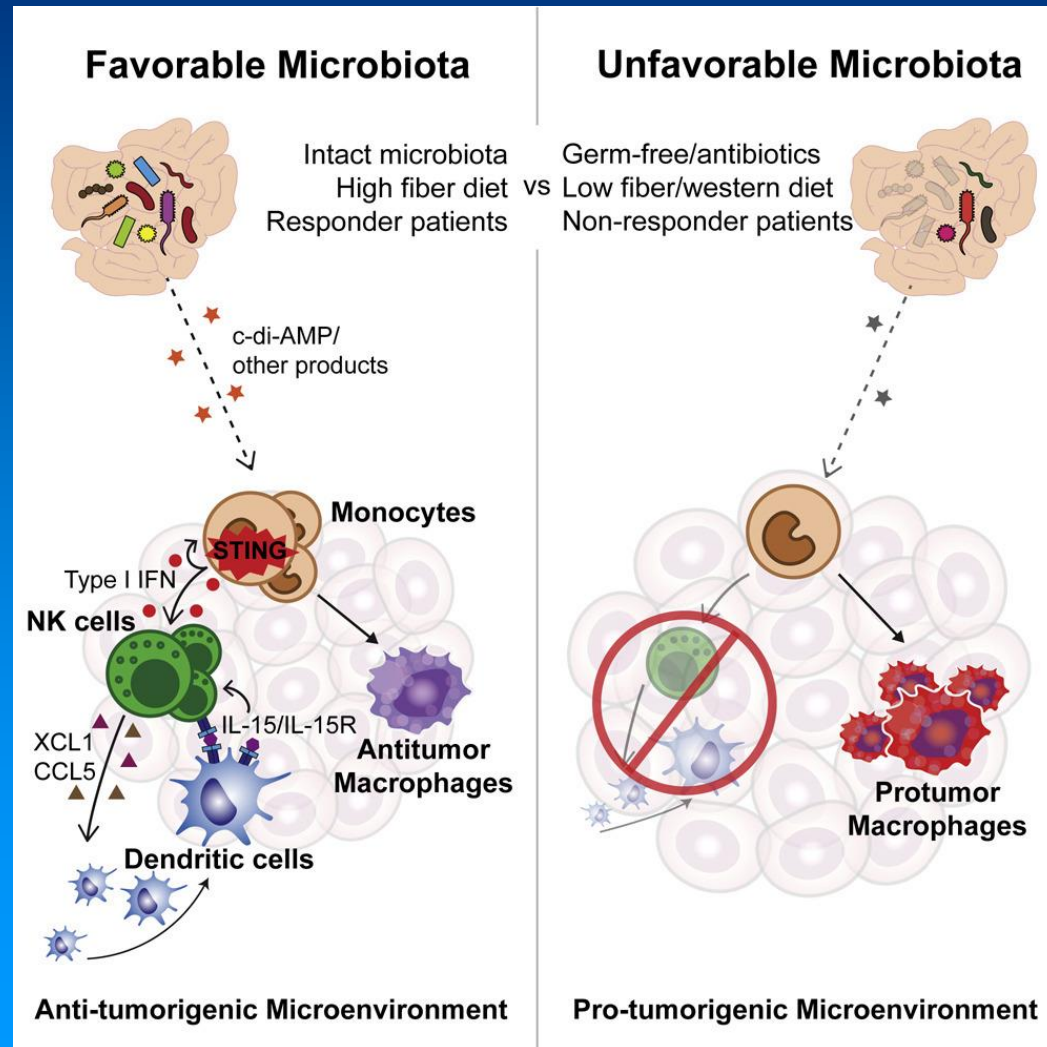
Une souche bactérienne du microbiote telle que *Bifidobacterium spp.* augmente l'efficacité des thérapies anti-PD1. Il existe des souches dont la présence dans l'intestin est corrélée à une plus grande efficacité de ces thérapies anti-cancéreuses.

# Alimentation et activation de la réponse immunitaire anti-tumorale



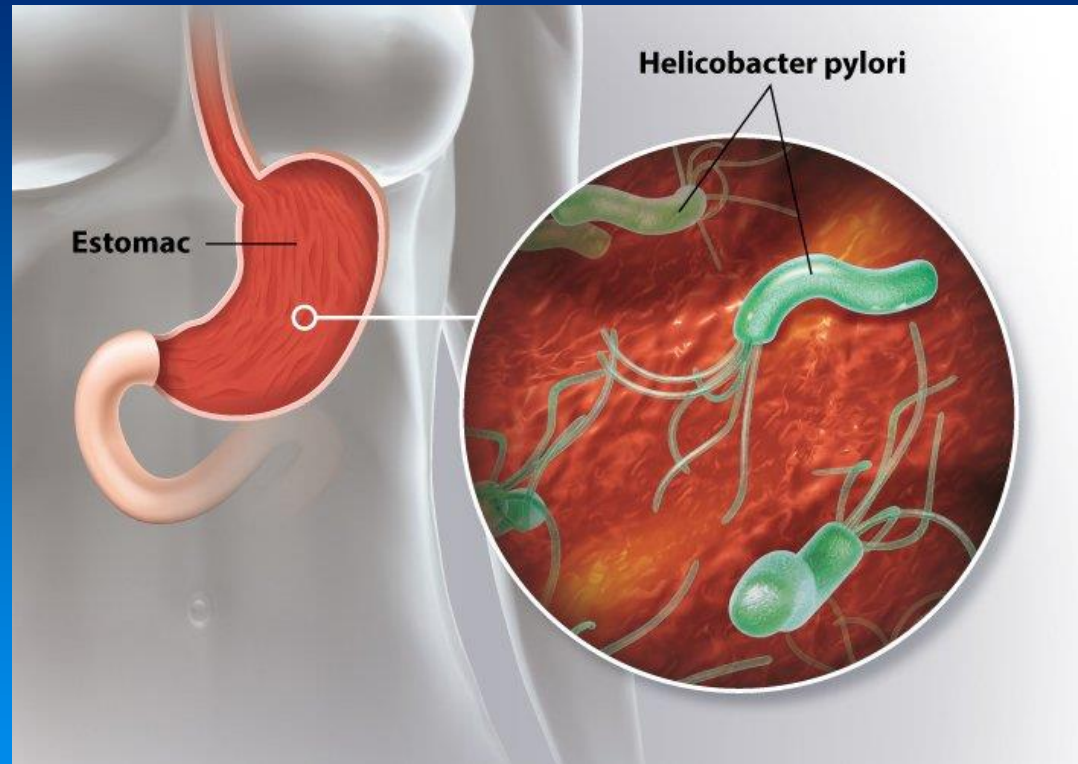
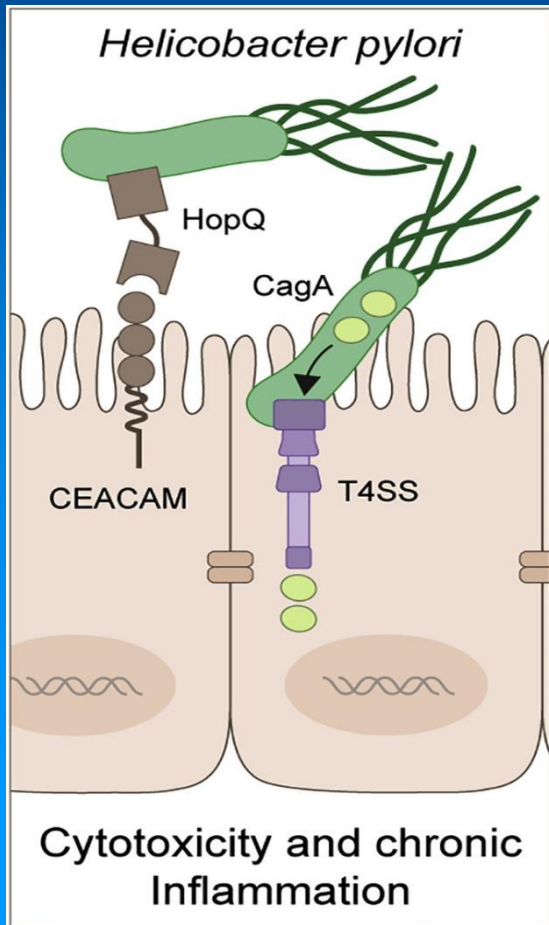
Un régime riche en fibres augmente la présence d'**A. Muciniphila** dans l'intestine. Cette souche bactérienne produit du **c-di-AMP** qui permet la production d'**interféron** (IFN-I) par les monocytes. Cet interféron peut alors activer les cellules **NK** ("Natural killer") qui pourront activer les cellules dendritiques pour mieux combattre les cellules cancéreuses.

# *Alimentation et activation de la réponse immunitaire anti-tumorale*





# Microbiote et cancer: antibiotiques?



*H. pylori* se lie aux cellules de l'estomac grâce à la protéine HopQ. Celle-ci se lie à la protéine CEACAM de l'hôte infecté. L'agent virulent CagA rentre aussi dans les cellules de l'hôte. Ces deux phénomènes contribuent à l'instauration d'une inflammation chronique dans l'estomac, ce qui augmente le risque d'un développement tumoral.

# *Macrophages et cancer*

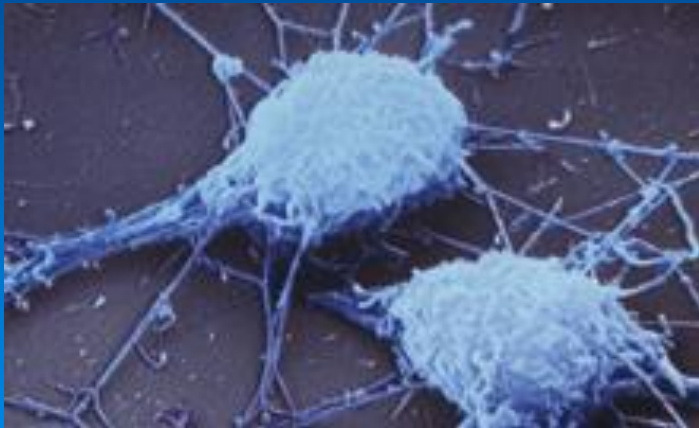
Les **TAMs** contribuent au développement tumoral



Ces cellules peuvent-elles constituer de nouvelles cibles compte-tenu de leur stabilité génomique?

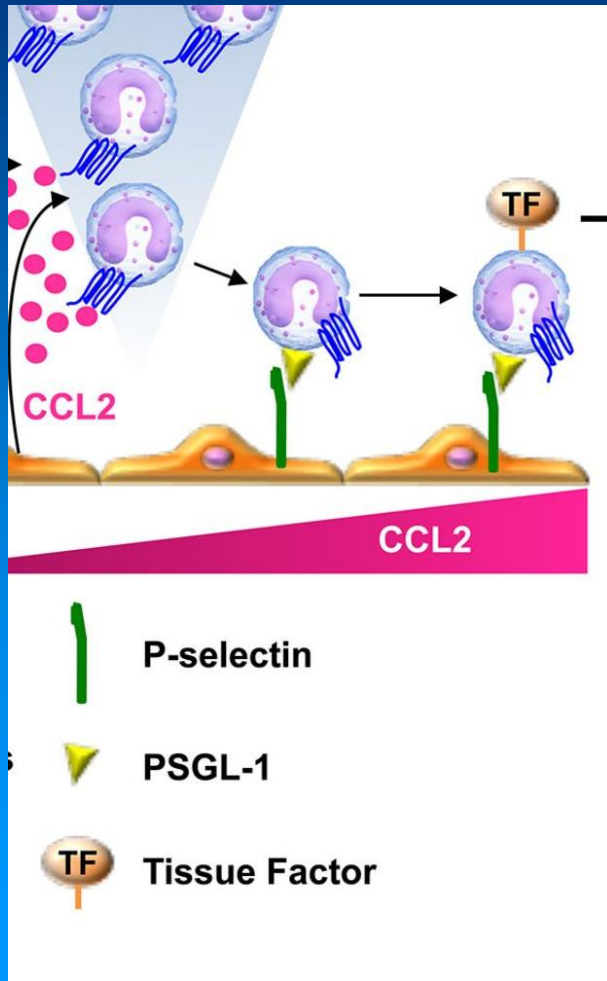


Une stabilité génomique implique l'absence de résistance aux traitements ciblés



# Macrophages et cancer

## TAMs comme cibles



**Le but est d'éliminer les TAMs dans les tumeurs**

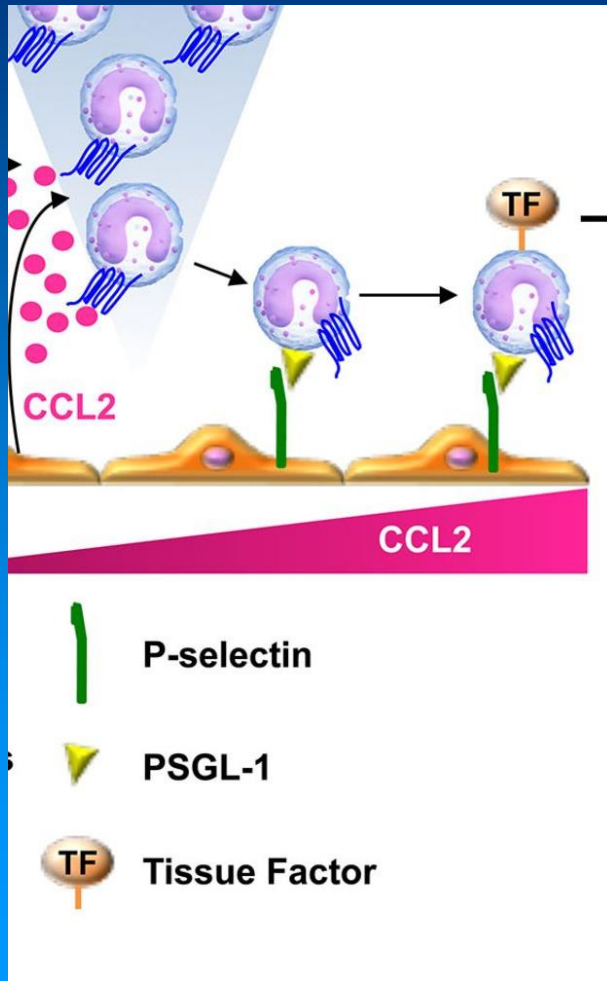
Les monocytes circulants dépendent de l'interaction entre **CCL2** et **CCR2** pour être recrutés depuis la moëlle osseuse vers les sites inflammatoires

Dès lors, l'inhibition de **CCR2** séquestre les monocytes dans la moëlle osseuse, ce qui diminue la quantité de monocytes circulants et de TAMs dans les tumeurs primaires et dans les métastases

L'inhibition de **CCL2** améliore l'efficacité de la chimiothérapie ou de l'immunothérapie

# Macrophages et cancer

## TAMs comme cibles



Néanmoins, une compensation par les **neutrophiles** intervient rapidement et il n'y a pas d'effet bénéfique au niveau des TAMs résidents

L'arrêt de cette thérapie conduit à un relargage massif des monocytes préalablement séquestrés dans la moëlle osseuse, ce qui exacerbe la formation des **metastases** dans des modèles expérimentaux de tumeurs du sein



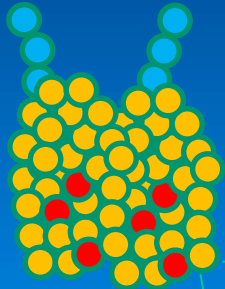
# Le cancer: recherche de nouvelles cibles thérapeutiques

Hétérogénéité tumorale

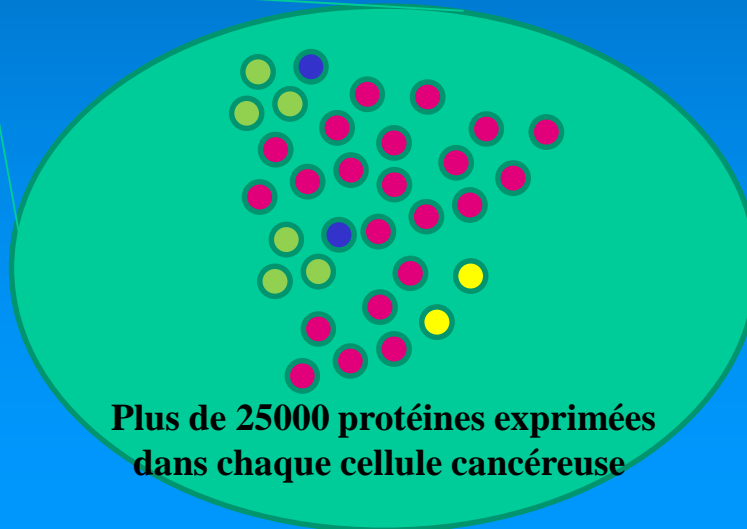
Résistances aux traitements



Nouvelles cibles requises



Cancer



Plus de 25000 protéines exprimées dans chaque cellule cancéreuse

● Protéines connues (AKT, PTEN, ERK, A20, ...)

● Protéines inconnues

● Protéines inconnues pouvant constituer de nouvelles cibles

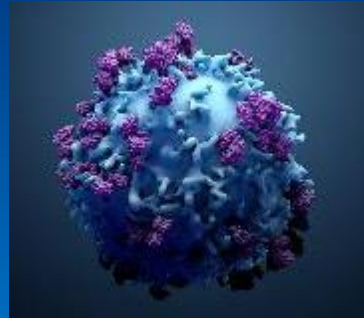


Etude des protéines inconnues

# La synthèse des protéines dans le cancer



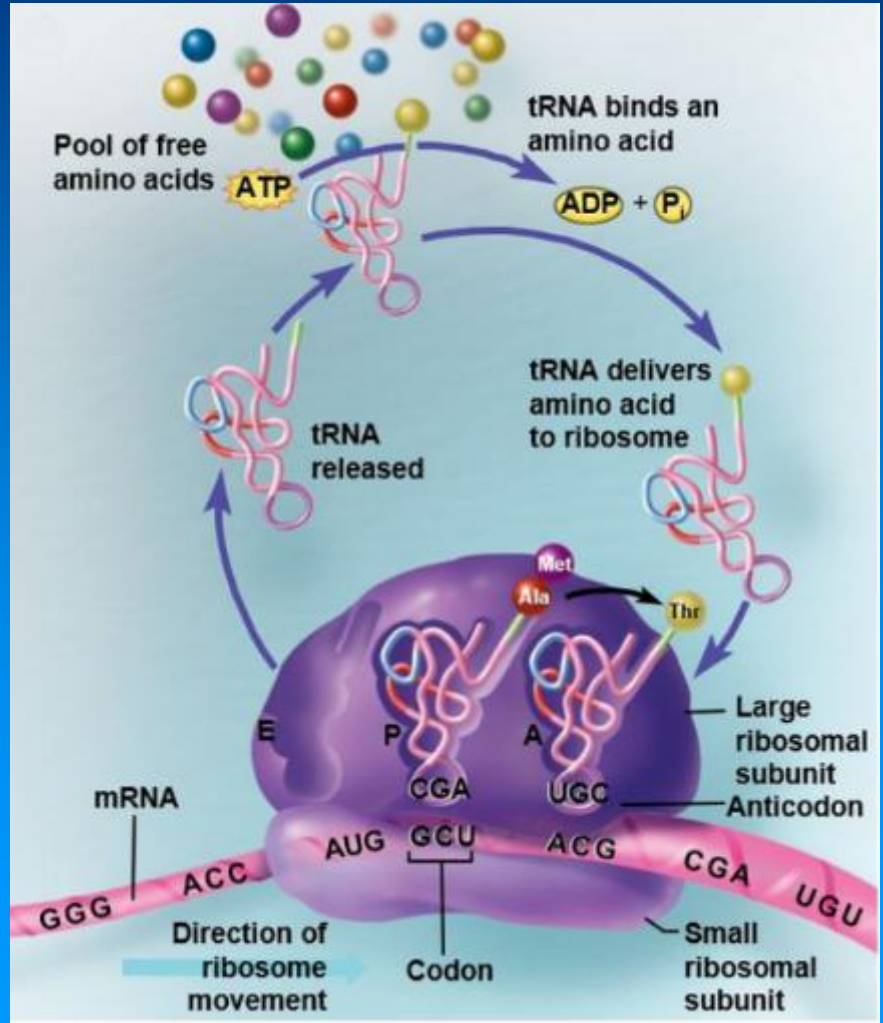
Inflammation



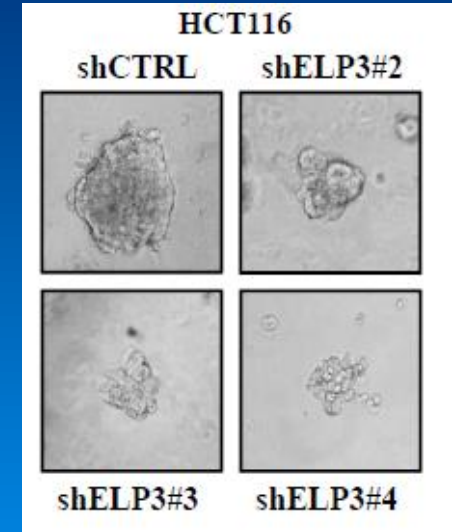
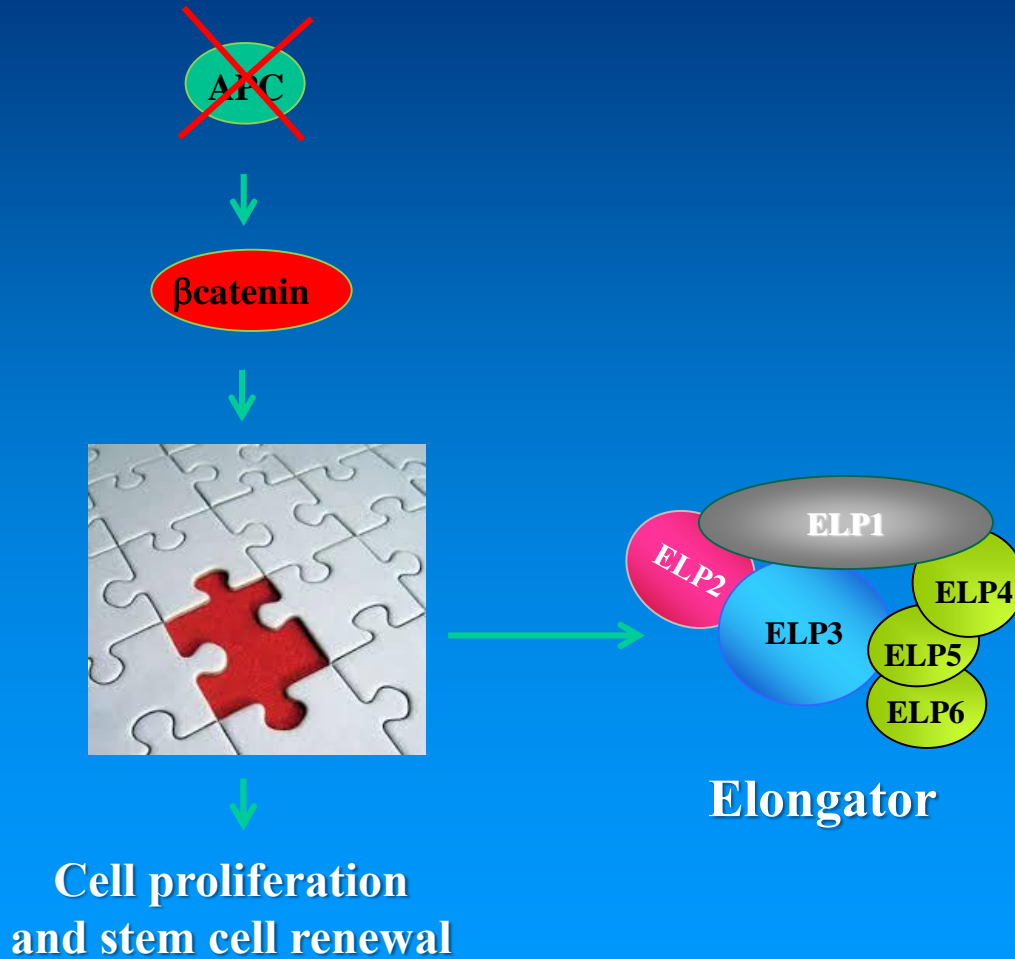
Cancer

Reprogrammation protéique

Réponse cellulaire

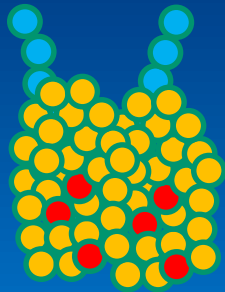


# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?



Matrigel

# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?



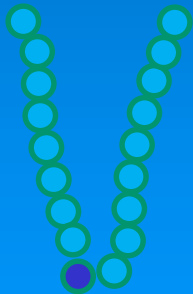
Carcinomes

**80%** des tumeurs intestinales humaines montrent une activité constitutive de la voie Wnt



**Il n'existe actuellement pas de médicament qui cible directement la voie Wnt**

Voie Wnt régulée



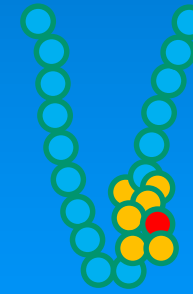
Renouvellement des cellules souches

Cible idéale

**Dispensable** dans l'homéostasie intestinale

**Indispensable** dans la biologie des cellules souches cancéreuses

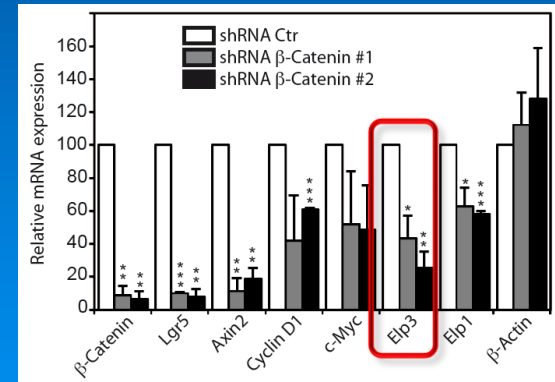
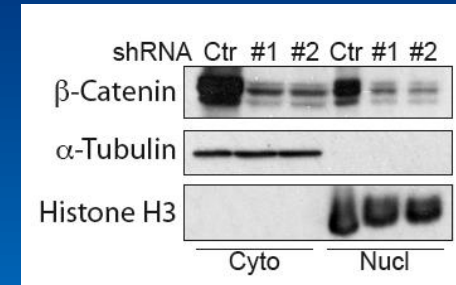
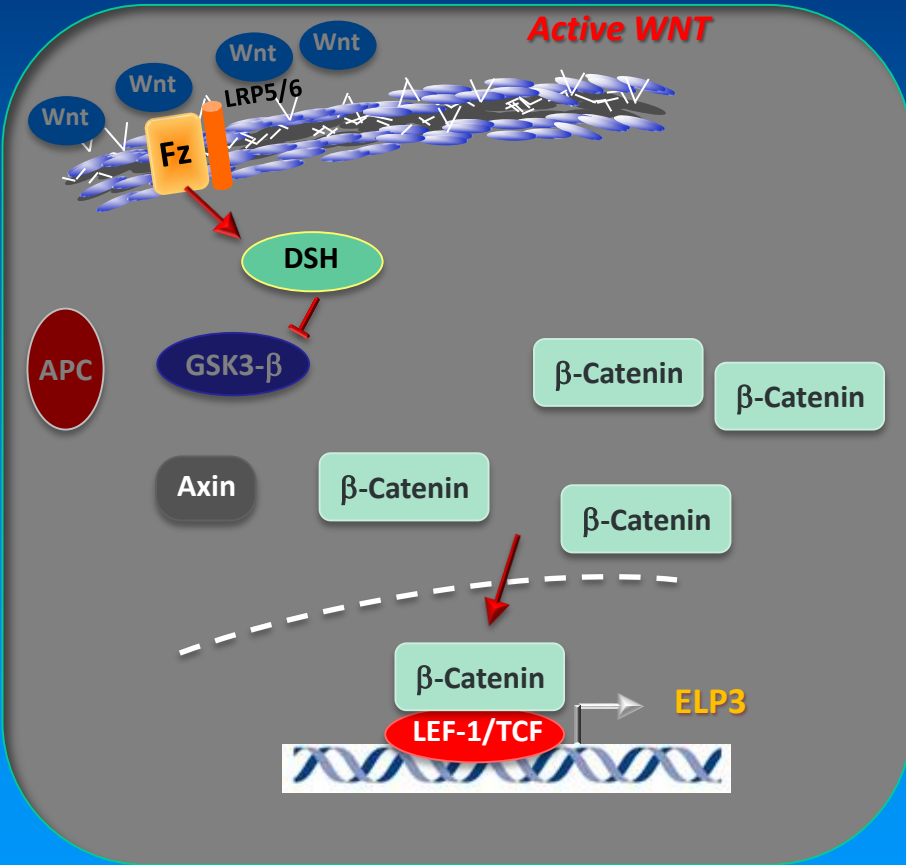
Voie Wnt constitutivement activée



Renouvellement des cellules souches cancéreuses



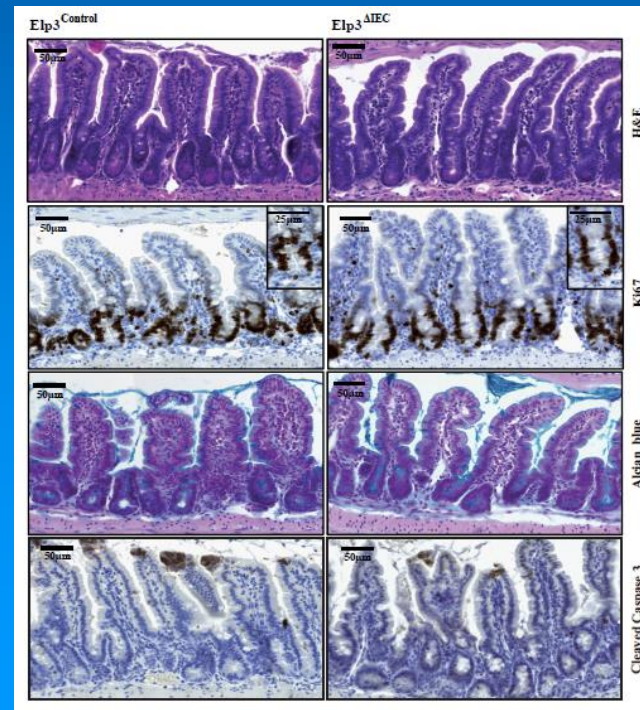
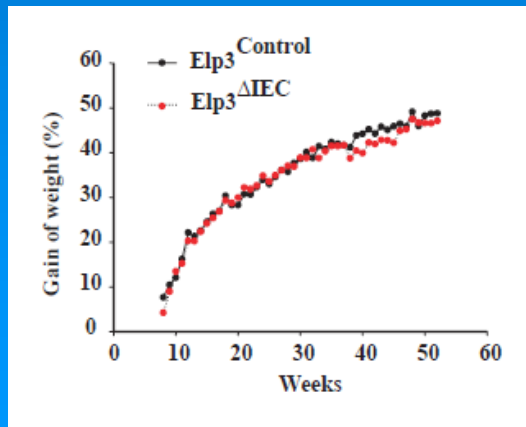
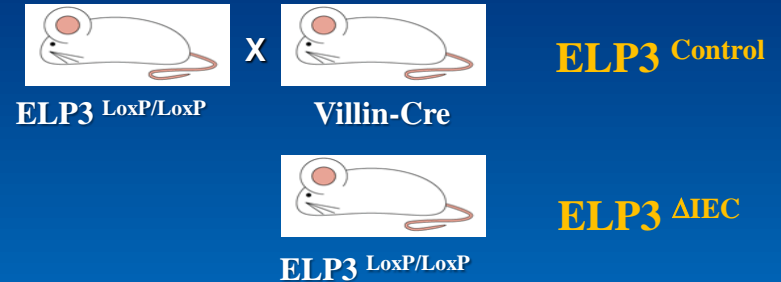
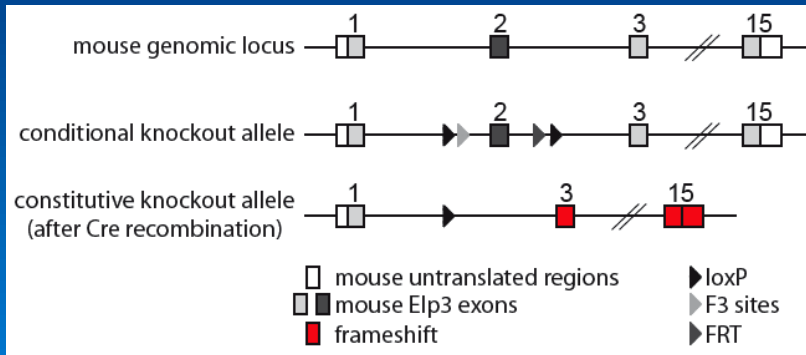
# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?



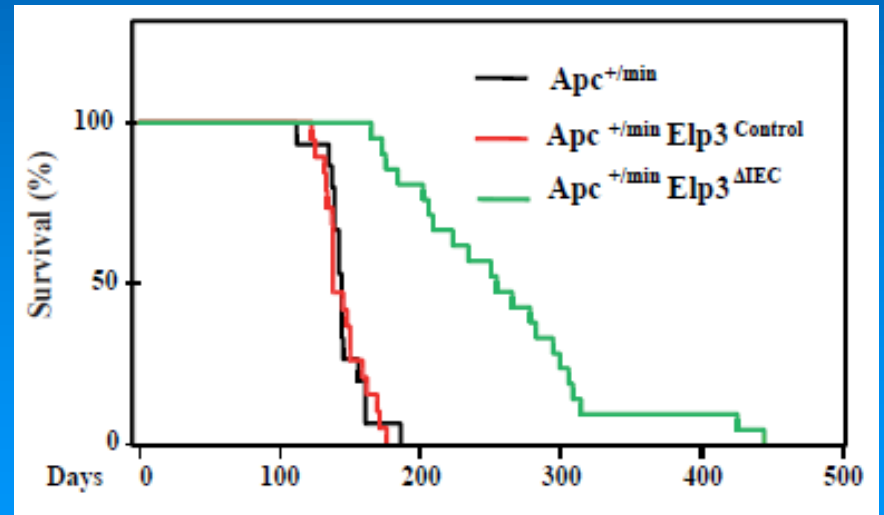
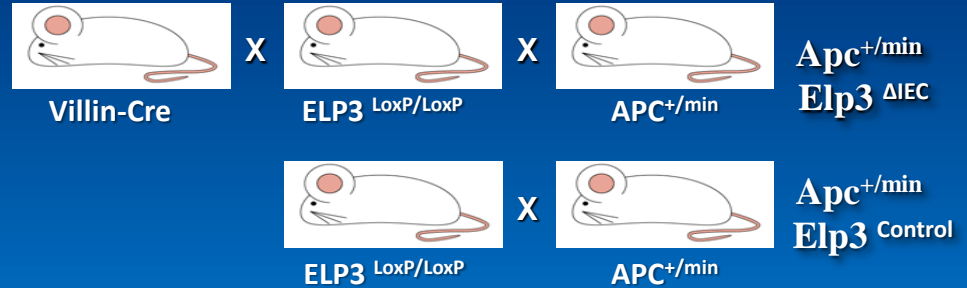
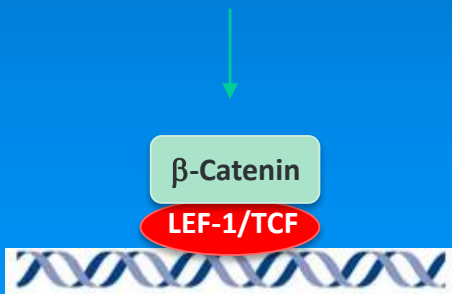
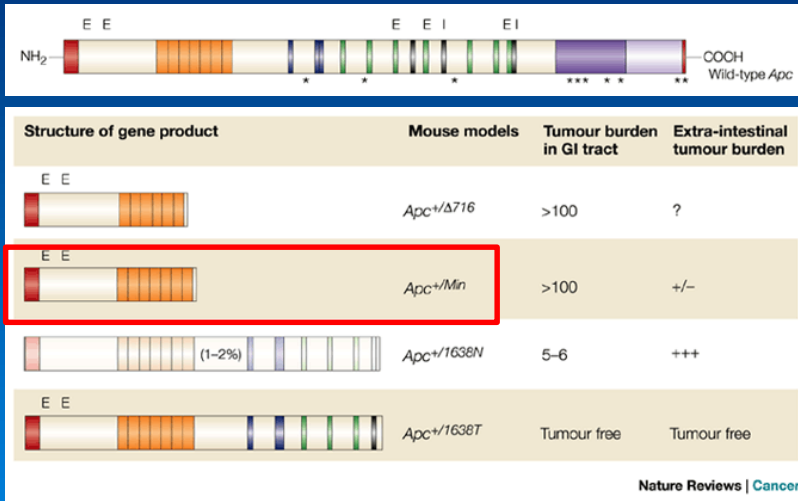
L'expression de Wnt est contrôlée par Wnt

# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?

## Une souris inactivée pour Elp3

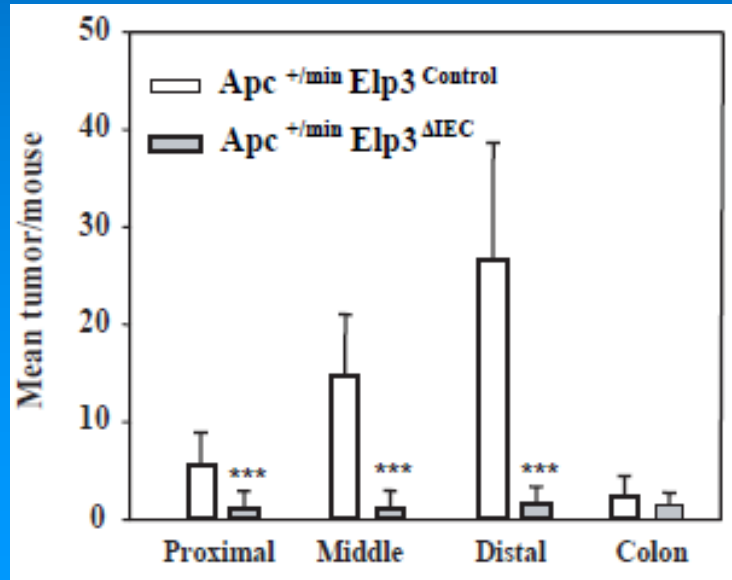
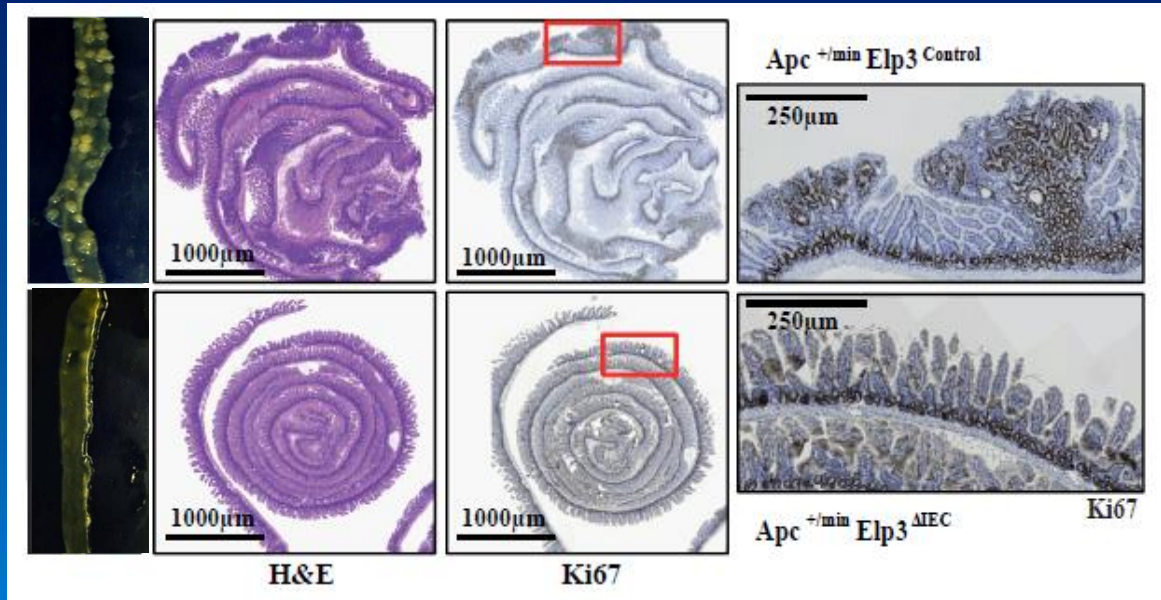


# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?



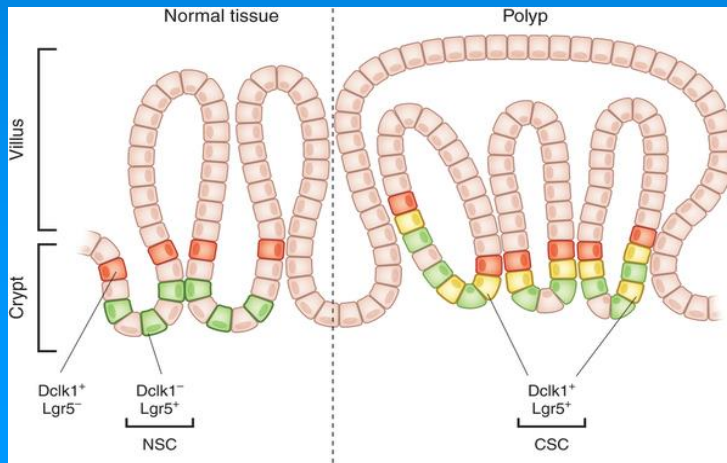
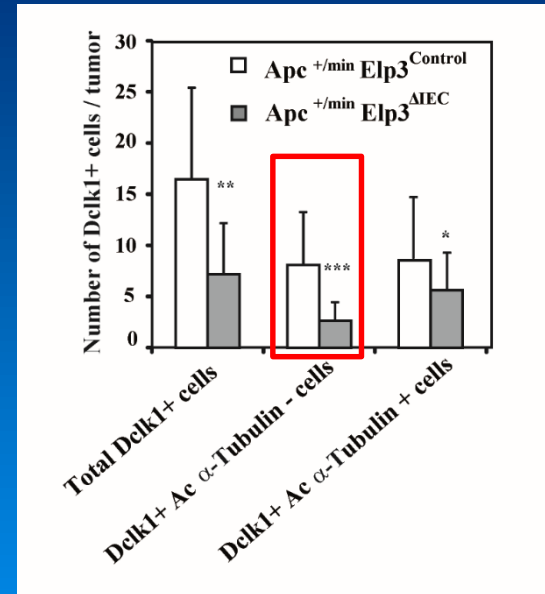
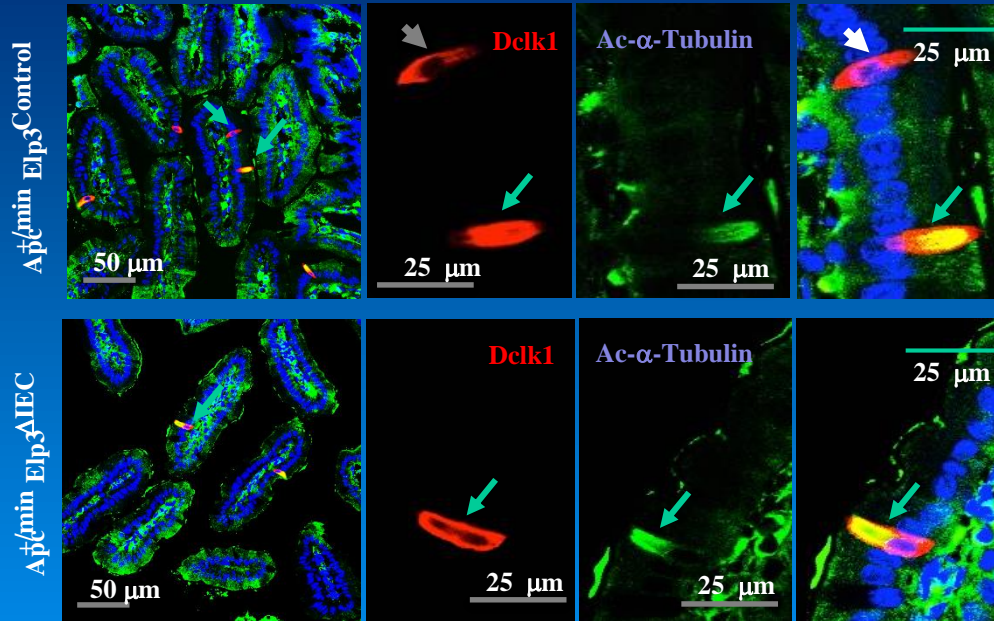
La perte de fonction d'Elp3 augmente l'espérance de vie des souris *Apc*<sup>+/*min*</sup>

# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?

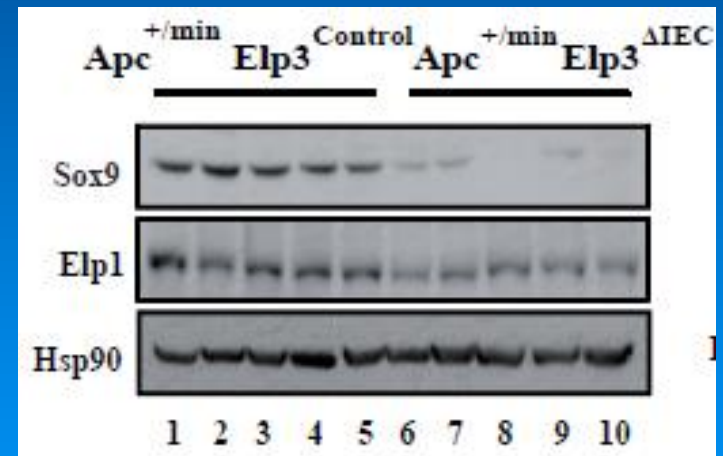
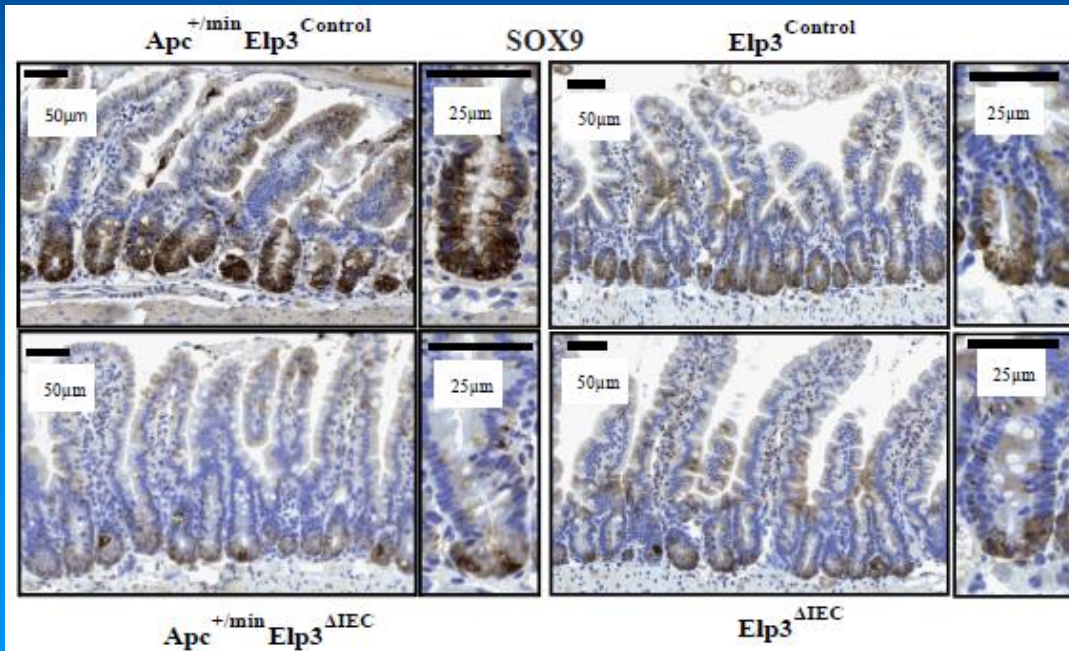




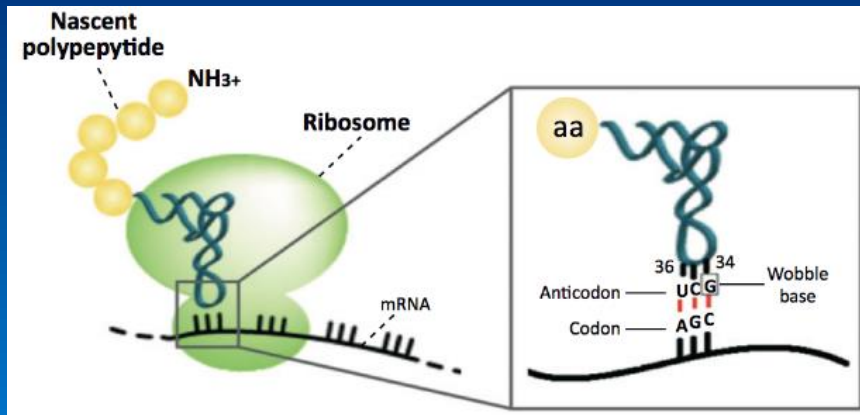
# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?



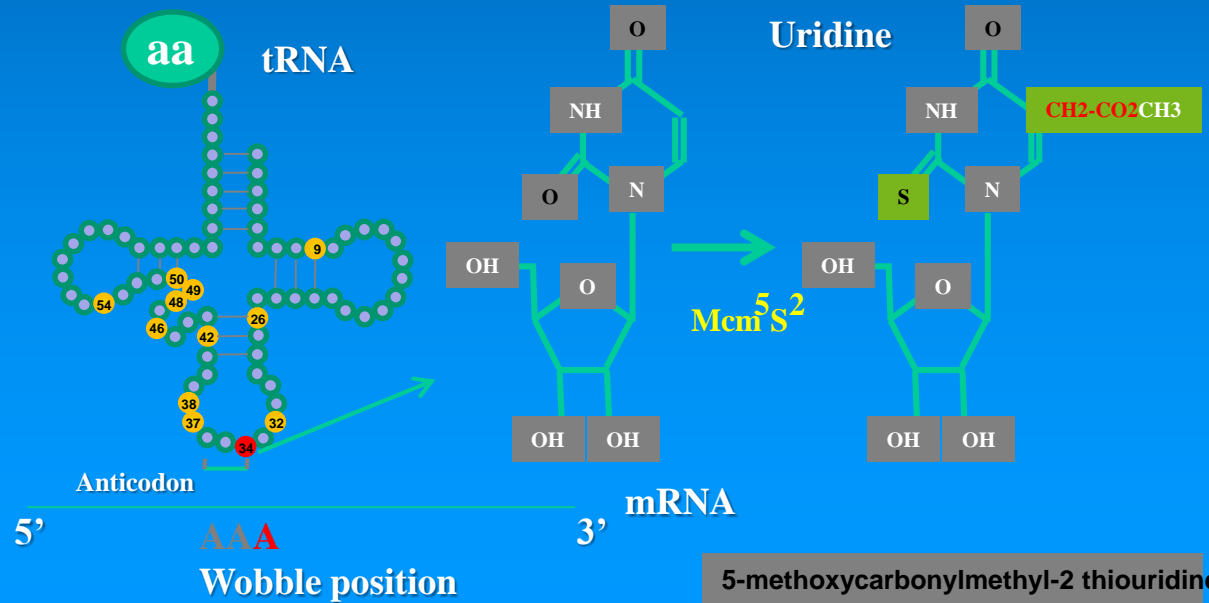
# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?



# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?

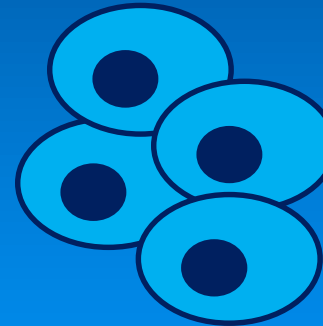
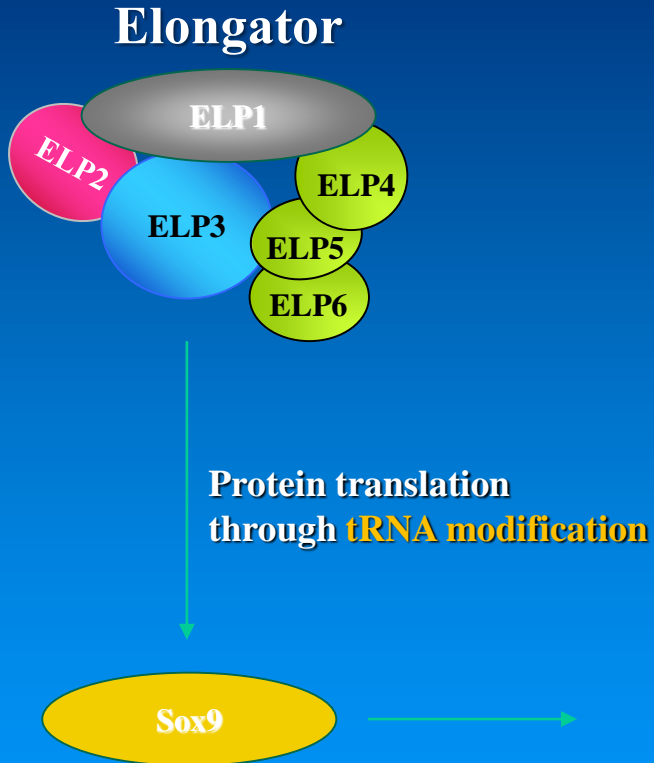


$\text{tRNA}_{\text{Lys}}^{\text{UUU}} \Rightarrow \text{AAA}$   
 $\text{tRNA}_{\text{Gln}}^{\text{UUG}} \Rightarrow \text{CAA}$   
 $\text{tRNA}_{\text{Glu}}^{\text{UUC}} \Rightarrow \text{GAA}$



5-methoxycarbonylmethyl-2 thiouridine

# Elp3: une cible qui agit en aval de Wnt ?



**Lgr5+ / Dclk1+ / Sox9 + tumor initiating cells**





# Laboratory of Medical Chemistry, GIGA Stem Cells

