



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **20 juin 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **FARES Nadim**

Titre de la thèse : « *La sous-expression de TLR3 : un mécanisme d'échappement à l'apoptose durant la carcinogenèse hépatique* ».



Résumé

Introduction : Le récepteur TLR3 (Toll-like receptor 3) détecte l'ARN double brin viral ou cellulaire; il est exprimé dans les hépatocytes humains dans lesquels son activation engendre une réponse pro-inflammatoire médiée par la production d'interféron de type I. Dans les cellules cancéreuses, TLR3 peut entraîner l'apoptose par sa capacité à activer la voie extrinsèque des caspases. Notre objectif était de caractériser l'expression et la fonctionnalité de TLR3 dans les carcinomes hépatocellulaires (CHC).

Matériels et Méthodes : Ce travail a été mené de manière translationnelle. *In vitro* : le rôle de TLR3 a été dans un modèle de transformation d'hépatocytes primaires humains (PHH) par les oncogènes SV40^{LT-ST} et H-Ras^{G12V}. *In vivo* : l'impact de TLR3 a été étudié dans un modèle de souris exprimant l'oncogène SV40 avec un TLR3 sauvage (TLR3^{+/+}) ou invalidé (TLR3^{-/-}) et qui développent des CHC dès l'âge de 3 mois. Enfin une cohorte française de 126 patients opérés d'un CHC de toutes étiologies a été analysée afin d'évaluer la valeur pronostique en termes de récurrence du niveau d'expression du récepteur en ARNm (q-rt-PCR), en protéine (Western Blot) et en immuno-histochimie, dans le foie tumoral par rapport au foie non tumoral.

Résultats: *In vitro*, la transformation cancéreuse de PHH *in vitro* par SV40^{LT-ST} et H-Ras^{G12V} s'accompagne d'une baisse drastique du niveau d'expression de TLR3 en ARNm et en protéine. L'expression forcée de TLR3 avant transduction par SV40^{LT-ST} est responsable de l'entrée en apoptose des cellules. *In vivo*, dans le modèle murin SV40, les foyers de transformation cancéreuse et de CHC sont significativement plus nombreux dans les souris SV40-TLR3^{-/-} que dans les souris SV40-TLR3^{+/+} à 8, 10 et 12 semaines. De plus, dans les souris SV40-TLR3^{-/-}, la comparaison de l'apoptose détectée par immuno-histochimie montre une diminution significative au sein du parenchyme hépatique comparée aux souris SV40-TLR3^{+/+} sans impact sur la prolifération hépatique ni le recrutement des cellules immunitaires notamment CD8. Enfin dans une série de 126 patients résequés d'un CHC, la sous-expression de l'ARNm de TLR3 (déterminée par rapport à un panel de foies sain) était significativement associée à la récurrence précoce post-résection en analyse univariée (HR=1.79 [1.04 - 3.06] p=0.03) et multivariée (HR=1.73 [1.01-2.97] p=0.04). L'impact pronostique de la sous-expression de TLR3 a été validé dans une large cohorte de 306 CHC résequés issus du TCGA.

Conclusion: la sous-expression de TLR3 est un mécanisme d'échappement à la mort cellulaire des hépatocytes par apoptose durant l'hépatocarcinogenèse. L'évaluation du niveau d'expression pourrait servir de biomarqueur puisque l'absence de TLR3 est associée au risque de récurrence. A contrario, la présence de TLR3 constitue une cible thérapeutique pour induire l'apoptose des cellules tumorales.