DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **13 décembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur IBANEZ Sébastien**

Titre de la thèse : *« Caractérisation physicochimique des membranes cellulaires lors de la cancérogenèse : application à la plasticité cellulaire »*

Résumé

Le tissu mammaire est intrinsèquement hétérogène et son développement ainsi que son maintien met en place des mécanismes génétiques et épigénétiques permettant des modifications de l'identité cellulaire tout au long de la vie d'une femme. Dans un contexte tumoral, ces mécanismes retrouvés principalement lors du développement embryonnaire comme par exemple la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) peuvent être réactivés permettant alors l'acquisition d'une plasticité phénotypique qui est au cœur du développement tumoral, de métastase, de la résistance thérapeutique et de la réémergence des cancers. Ces mécanismes associés à la perte de l'identité cellulaire subissent des modifications profondes de leur métabolisme. L'une des conséquences est le remodelage des lipides lors de l'acquisition d'un phénotype plastique qui pourrait alors être suivi par les propriétés biophysiques des membranes notamment par la fluidité membranaire.

La première partie de cette thèse est la validation dans un contexte biologique d'un dérivé du Laurdan créé au sein de l'équipe, le Dioll. Tout comme le Laurdan, le Dioll est une sonde fluorescence ratiométrique membranaire permettant la mesure de la fluidité membranaire par le calcul du paramètre GP (Generalized Polarization). L'analyse de ses propriétés lors du marquage des membranes cellulaires met en avant les avantages de cette sonde face aux sondes préexistantes. En effet, le Dioll possède un meilleur rapport quantique, une meilleure répartition au sein des phases liquides désordonnées permettant ainsi une meilleure discrimination des endomembranes. De plus, à la comparaison du Laurdan et du C-laurdan, le Dioll ne marque pas les lipides non membranaires, tels les gouttelettes lipidiques, permettant une mesure des membranes cellulaires sans biais de ces structures lipidique non membranaire. Enfin, l'analyse en cytométrie en flux spectrale des vésicules extracellulaires marquées au Dioll permet de discriminer deux populations. Ces résultats sous-entendent que le Dioll permettrait de discriminer les microvésicules et les exosomes, ayant respectivement pour origine la membrane plasmique (rigide) et les endomembranes (fluide).

La deuxième partie de cette thèse est l'utilisation du Dioll pour suivre les variations de la fluidité membranaire dans des conditions de variation de plasticité cellulaire. L'analyse d'un ensemble de lignées cellulaires cancéreuses mammaires (MCF7, ZR75-1, BT20, HCC1937, HCC1954, MDA-MB-231 et HS578T) montre qu'il est possible de discriminer les différents sous-types Luminal, Basal-like et Claudine-low à partir de la mesure de leur fluidité membranaire. Dans un second temps, ces travaux se portent sur l'utilisation d'un modèle isogénique de modulation de la plasticité cellulaire par induction d'un EMT-TF exogène, ZEB1, au sein de cellules épithéliale mammaires humaines immortalisées (HMEC). A partir de ce modèle nous avons pu

observer une augmentation de la fluidité membranaire lors de l'acquisition d'un phénotype plus indifférencié. Finalement, nous avons à partir de ce modèle et par modulation de l'environnement hormono-nutritif créer un modèle permettant l'acquisition d'un phénotype métastable, multipotent, pouvant acquérir une identité luminale ou myoépithéliale. Enfin, nous avons pu corréler les variations phénotypiques dans ce modèle à des variations de fluidité membranaire, avec les cellules métastables arborant une fluidité plus importante en comparaison des cellules ayant acquis une identité cellulaire luminale ou myoépithéliale.

L'ensemble de ces résultats montre que la mesure de la fluidité membranaire permettrait de créer un indice de plasticité qui servirait d'outil de diagnostic et d'aide à la mise en place d'une stratégie thérapeutique efficace et personnelle. Différents approches seraient alors possibles comme l'analyse de biopsie solide, ou encore liquides basées sur les cellules tumorales circulantes ou les vésicules circulantes.