



Titre de thèse : *Implication du transfert de TrkB par les exosomes dans l'activation de la signalisation des cellules cibles tumorales, la progression tumorale et la transition épithéliale-mésenchymateuse ou les métastases.*

Financement : région

Nom de l'équipe et du directeur : EA 3842 Homéostasie Cellulaire et Pathologies - Pr. MO JAUBERTEAU

Encadrants : François LALLOUE (PU) et Gaëlle BEGAUD-GRIMAUD (MCU)

Contacts : fabrice.lalloue@unilim.fr / gaelle.begaud@unilim.fr

Mots clés : Oncologie, récepteurs des neurotrophines, exosomes, progression tumorale, transition épithéliale-mésenchymateuse, métastases, glioblastome, cancer bronchique.

Profil et compétences recherchées : Master 2 recherche biologie santé.

Profil Motivé, Dynamique et curieux. Compétences techniques en biologie cellulaire et moléculaire

Description de la problématique de recherche :

Thématiques Domaine Contexte :

Les neurotrophines et leurs récepteurs sont exprimés dans de nombreux cancers, néanmoins leur fonction reste encore très mal connue (Akil et al., 2011 ; De la Cruz-Morcillo et al., 2016 ; Johnston et al., 2007). Parmi les récepteurs des neurotrophines, TrkB jouent un rôle clé dans plusieurs mécanismes de l'oncogenèse. Ainsi, dans le glioblastome, son expression et la signalisation qui lui est associée sont impliqués dans le maintien et la croissance des cellules souches cancéreuses favorisant l'agressivité tumorale et la résistance thérapeutique de ces tumeurs (Lawn et al., 2015). Dans le cancer bronchique, l'expression de TrkB est corrélée aux stades les plus agressif et est impliquée dans l'établissement des métastases (Sinkevicius et al., 2014). Ce mécanisme est directement lié à sa capacité à induire la transition épithéliale mésenchymateuse (Ricci et al., 2013). Des travaux récents de notre équipe ont montré que le transfert de TrkB via des microvésicules sécrétées (exosomes) par les cellules tumorales les plus aggressive permettait la dissémination du récepteur à l'ensemble des cellules présentes au niveau de la tumeur ou du microenvironnement (Pinet et al., 2016 ; Wilson et al., 2014). Ce transfert via les exosomes induit une augmentation de la prolifération et du caractère invasif des cellules tumorales qui possédaient au départ un phénotype peu agressif. Actuellement, le mécanisme exact ainsi que les voies d'activation de ces cellules ne sont pas connues. Une boucle autocrine dépendante du BDNF et du facteur de transcription Stat3 pourrait être

impliqué dans l'activation de TrkB et favoriser la prolifération tumorale dans le cancer bronchique (Chen et al., 2016). Etant donné que Stat3 est impliqué dans le maintien du caractère souches des cellules de glioblastome, ce mécanisme pourrait être stimulé lors du transfert de TrkB via les exosomes ce qui augmenterait l'agressivité tumorale (Villalva et al., 2011). Cette agressivité dépend également de la capacité des cellules tumorales à envahir le microenvironnement ou à former des métastases. Le caractère invasif ou le mécanisme métastatique est associé selon le type tumoral à l'expression de TrkB qui induirait une transition épithéliale mésenchymateuse (Ricci et al., 2013 ; Koch et al., 2016). Le transfert de TrkB via les exosomes pourrait donc également favoriser la transition épithéliale mésenchymateuse ou les métastases en activant les cellules tumorales.

Objectifs : Etudier la fonction de TrkB sur les cellules tumorales ciblées par les exosomes, ainsi que les voies de signalisation activées. Déterminer si le transfert de TrkB par les exosomes est suffisant pour induire des mécanismes invasifs (transition épithéliale mésenchymateuse) dans le glioblastome ou métastatiques dans le cancer bronchique.

Méthodes :

Afin de répondre à ces différents points, des modèles cellulaires sur ou sous-exprimant TrkB seront développés afin de produire des exosomes dans lesquels le niveau d'expression du récepteur TrkB sera variable. Nous pourrons ainsi étudier leur fonction et leur capacité à induire une transformation maligne des cellules tumorales différenciées vers un phénotype agressif de cellules souches cancéreuses ou de cellules souches mésenchymateuses. L'activation du facteur de transcription Stat3 sera également analysée ainsi que l'expression des gènes qu'il contrôle afin de déterminer si ceux-ci sont surexprimés et permettent d'expliquer le maintien du caractère souche. Différentes conditions de culture pourront être effectuées pour étudier ces mécanismes et 2 modèles de cancer seront principalement développés (Glioblastome et cancer bronchique). Les mécanismes métastatiques seront analysés à partir de modèles *in vitro* et *in vivo* (CAM,...).

Résultat attendu :

Le transfert de TrkB par les exosomes sécrétés par les cellules les plus agressives (Cellules souches cancéreuses) permet d'activer des voies de signalisation dépendantes de ce récepteur et de conduire à une transformation maligne. Cette activation accroît l'agressivité cellulaire en favorisant l'expression de marqueurs de la transition épithéliale mésenchymateuse ou en induisant une augmentation du potentiel métastatique selon le type tumoral étudié. La détection de TrkB dans les exosomes plasmatiques pourrait avoir une valeur prédictive sur le risque de transition épithéliale mésenchymateuse ou de métastase.

Références bibliographiques :

Akil H, Perraud A, Mélin C, Jauberteau MO, Mathonnet M. Fine-tuning roles of endogenous brain-derived neurotrophic factor, TrkB and sortilin in colorectal cancer cell survival. PLoS One. 2011;6(9):e25097.

De la Cruz-Morcillo MA, Berger J, Sánchez-Prieto R, Saada S, Naves T, Guillaudeau A, Perraud A, Sindou P, Lacroix A, Descazeaud A, Lalloué F, Jauberteau MO. p75 neurotrophin receptor and pro-BDNF promote cell survival and migration in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(23):34480-97.

Johnston, A. L., Lun, X., Rahn, J. J., Liacini, A., Wang, L., Hamilton, M. G., Parney, I. F., Hempstead, B. L., Robbins, S. M., Forsyth, P. A., and Senger, D. L. (2007) The p75 neurotrophin receptor is a central regulator of glioma invasion. *PLoS Biol*. 5, e212

Lawn S, Krishna N, Pisklakova A, Qu X, Fenstermacher DA, Fournier M, Vrionis FD, Tran N, Chan JA, Kenchappa RS, Forsyth PA. Neurotrophin signaling via TrkB and TrkC receptors promotes the growth of brain tumor-initiating cells. *J Biol Chem*. 2015 Feb 6;290(6):3814-24.

Sinkevicius KW, Kriegel C, Bellaria KJ, Lee J, Lau AN, Leeman KT, Zhou P, Beede AM, Fillmore CM, Caswell D, Barrios J, Wong KK, Sholl LM, Schlaeger TM, Bronson RT, Chirieac LR, Winslow MM, Haigis MC, Kim CF. Neurotrophin receptor TrkB promotes lung adenocarcinoma metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(28):10299-304.

Alberto Ricci, Claudia De Vitis, Alessia Noto, Luigi Fattore, Salvatore Mariotta, Emanuela Cherubini, Giuseppe Roscilli, Giuseppina Liguori, Giosuè Scognamiglio, Gaetano Rocco, Gerardo Botti, Enrico Giarnieri, Maria Rosaria Giovagnoli, Giorgio De Toma, Gennaro Ciliberto, Rita Mancini. TrkB is responsible for EMT transition in malignant pleural effusions derived cultures from adenocarcinoma of the lung. *Cell Cycle*. 2013; 12(11): 1696–1703.

Pinet S, Bessette B, Vedrenne N, Lacroix A, Richard L, Jauberteau MO, Battu S, Lalloué F. TrkB-containing exosomes promote the transfer of glioblastoma aggressiveness to YKL-40-inactivated glioblastoma cells. *Oncotarget*. 2016 Aug 2;7(31):50349-50364.

Wilson CM, Naves T, Vincent F, Melloni B, Bonnaud F, Lalloué F, Jauberteau MO. Sortilin mediates the release and transfer of exosomes in concert with two tyrosine kinase receptors. *J Cell Sci*. 2014;127(Pt 18):3983-97.

Chen B, Liang Y, He Z, An Y, Zhao W, Wu J. Autocrine activity of BDNF induced by the STAT3 signaling pathway causes prolonged TrkB activation and promotes human non-small-cell lung cancer proliferation. *Sci Rep*. 2016;6:30404.

Villalva C, Martin-Lannerée S, Cortes U, Dkhissi F, Wager M, Le Corf A, Tourani JM, Dusanter-Fourt I, Turhan AG, Karayan-Tapon L. STAT3 is essential for the maintenance of neurosphere-initiating tumor cells in patients with glioblastomas: a potential for targeted therapy? *Int J Cancer*. 2011;128(4):826-38.

Koch K, Hartmann R, Schröter F, Suwala AK, Maciaczyk D, Krüger AC, Willbold D, Kahlert UD, Maciaczyk J. Reciprocal regulation of the cholinic phenotype and epithelial mesenchymal transition in glioblastoma cells. *Oncotarget*. 2016;7(45):73414-73431.



Title : *Involvement of TrkB transfer through exosomes in recipient cell signaling activation, tumor progression and Epithelial-Mesenchymal Transition or metastasis.*

Financing : région

Nom de l'équipe et du directeur : EA 3842 Homéostasie Cellulaire et Pathologies - Pr. MO JAUBERTEAU

Supervisors : François LALLOUE (PU) et Gaëlle BEGAUD-GRIMAUD (MCU) - fabrice.lalloue@unilim.fr / gaelle.begaud@unilim.fr

Mots clés : Oncology, neurotrophin receptors, exosomes, Tumor progression, Epithelial-mesenchymal transition (EMT), metastasis, glioblastoma, lung cancer.

Profil et compétences recherchées : Master 2 recherche biologie santé.

Profile motivated, dynamic and curious. Technical expertises in Cell and Molecular Biology

Description de la problématique de recherche :

Topics, state of the art:

Neurotrophins and their receptors are frequently expressed in several cancers. Nevertheless, their function still remains unclear (Akil et al., 2011 ; De la Cruz-Morcillo et al., 2016 ; Johnston et al., 2007). Among these receptors, TrkB plays a key role in oncogenesis mechanisms. In Glioblastoma, TrkB signalling is involved in cancer stem cells (CSC) growth promoting tumor aggressiveness and therapeutic resistance (Lawn et al., 2015). In lung cancer, TrkB is correlated with higher tumor stages and implied in metastasis mechanisms (Sinkevicius et al., 2014). This mechanism is closely linked to its ability to induce epithelial - mesenchymal transition (EMT) (Ricci et al., 2013). Our recent works demonstrated that the transfer of TrkB through microvesicles (exosomes) released by the most aggressiveness tumor cells allows to disseminate TrkB towards other tumor or microenvironment cells (Pinet et al., 2016 ; Wilson et al., 2014). This transfer of TrkB increases proliferation and invasiveness properties in less aggressive tumor cells. Although exosome transfer was already analyzed, the mechanism of activation in targeted cells are unknown. An autocrine loop dependent of BDNF and Stat3 is involved in TrkB activation and promotes tumor proliferation in lung cancer (Chen et al., 2016). Since Stat3 implied in the maintaining of stemness in glioblastoma cells, the transfer of TrkB might regulate Stat3 and increase tumor aggressiveness (Villalva et al., 2011). Furthermore, invasiveness or metastasis are associated to TrkB expression which is

able to induce EMT (Ricci et al., 2013 ; Koch et al., 2016). Thus, the transfer of TrkB through exosomes might also promote EMT in glioblastoma or metastasis in lung cancer.

Goals: First, study TrkB function in exosomes targeted cells and the signaling pathway activated. Second, Determine whether the transfer of TrkB through exosomes is required to induce EMT in glioblastoma cells or metastasis in lung cancer cells.

Methods:

In order to analyze all points, several cell models with TrkB gain or loss of function will be set up to produce exosomes in which TrkB expression level will be variable. So, we could study the capability of TrkB overexpressed exosomes or TrkB depleted exosomes to induce a malignant transformation of tumor differentiated cells towards an aggressive phenotype related to CSC or mesenchymal stem cells. Stat3 activation will be also analyzed as well as genes regulated by this transcription factor in order to determine what genes are overexpressed and if they are involved in the maintaining of “stemness”. Two tumor models (glioblastoma and lung cancer) will be developed with distinct conditions of culture. Metastasis mechanisms will be studied in *in vitro* and *in vivo* models (CAM models,...).

Expected Results:

The transfer of TrkB through exosomes released by the most aggressive tumor cells (such as cancer stem cells) allows to stimulate specific signaling pathway and leads to malignant transformation of recipient tumor cells. This transfer contributes to activate these cells and to increase cell aggressiveness which promotes the expression of specific marker related to EMT (Glioblastoma) or potentiates metastasis (lung cancer). The characterization of TrkB in exosomes circulating in plasma might provide new prognostic biomarker to detect the risk of EMT or metastasis in these tumors.

Bibliography :

Akil H, Perraud A, Mélin C, Jauberteau MO, Mathonnet M. Fine-tuning roles of endogenous brain-derived neurotrophic factor, TrkB and sortilin in colorectal cancer cell survival. PLoS One. 2011;6(9):e25097.

De la Cruz-Morcillo MA, Berger J, Sánchez-Prieto R, Saada S, Naves T, Guillaudeau A, Perraud A, Sindou P, Lacroix A, Descazeaud A, Lalloué F, Jauberteau MO. p75 neurotrophin receptor and pro-BDNF promote cell survival and migration in clear cell renal cell carcinoma. Oncotarget. 2016;7(23):34480-97.

Johnston, A. L., Lun, X., Rahn, J. J., Liacini, A., Wang, L., Hamilton, M. G., Parney, I. F., Hempstead, B. L., Robbins, S. M., Forsyth, P. A., and Senger, D. L. (2007) The p75 neurotrophin receptor is a central regulator of glioma invasion. PLoS Biol. 5, e212

Lawn S, Krishna N, Pisklakova A, Qu X, Fenstermacher DA, Fournier M, Vrionis FD, Tran N, Chan JA, Kenchappa RS, Forsyth PA. Neurotrophin signaling via TrkB and TrkC receptors promotes the growth of brain tumor-initiating cells. J Biol Chem. 2015 Feb 6;290(6):3814-24.

Sinkevicius KW, Kriegel C, Bellaria KJ, Lee J, Lau AN, Leeman KT, Zhou P, Beede AM, Fillmore CM, Caswell D, Barrios J, Wong KK, Sholl LM, Schlaeger TM, Bronson RT, Chirieac LR, Winslow

MM, Haigis MC, Kim CF. Neurotrophin receptor TrkB promotes lung adenocarcinoma metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(28):10299-304.

Alberto Ricci, Claudia De Vitis, Alessia Noto, Luigi Fattore, Salvatore Mariotta, Emanuela Cherubini, Giuseppe Roscilli, Giuseppina Liguori, Giosuè Scognamiglio, Gaetano Rocco, Gerardo Botti, Enrico Giarnieri, Maria Rosaria Giovagnoli, Giorgio De Toma, Gennaro Ciliberto, Rita Mancini. TrkB is responsible for EMT transition in malignant pleural effusions derived cultures from adenocarcinoma of the lung. *Cell Cycle*. 2013; 12(11): 1696–1703.

Pinet S, Bessette B, Vedrenne N, Lacroix A, Richard L, Jauberteau MO, Battu S, Lalloué F. TrkB-containing exosomes promote the transfer of glioblastoma aggressiveness to YKL-40-inactivated glioblastoma cells. *Oncotarget*. 2016 Aug 2;7(31):50349-50364.

Wilson CM, Naves T, Vincent F, Melloni B, Bonnaud F, Lalloué F, Jauberteau MO. Sortilin mediates the release and transfer of exosomes in concert with two tyrosine kinase receptors. *J Cell Sci*. 2014;127(Pt 18):3983-97.

Chen B, Liang Y, He Z, An Y, Zhao W, Wu J. Autocrine activity of BDNF induced by the STAT3 signaling pathway causes prolonged TrkB activation and promotes human non-small-cell lung cancer proliferation. *Sci Rep*. 2016;6:30404.

Villalva C, Martin-Lannerée S, Cortes U, Dkhissi F, Wager M, Le Corf A, Tourani JM, Dusanter-Fourt I, Turhan AG, Karayan-Tapon L. STAT3 is essential for the maintenance of neurosphere-initiating tumor cells in patients with glioblastomas: a potential for targeted therapy? *Int J Cancer*. 2011;128(4):826-38.

Koch K, Hartmann R, Schröter F, Suwala AK, Maciaczyk D, Krüger AC, Willbold D, Kahlert UD, Maciaczyk J. Reciprocal regulation of the cholinic phenotype and epithelial mesenchymal transition in glioblastoma cells. *Oncotarget*. 2016;7(45):73414-73431.