

MASTER 2 BIOLOGIE DE LA PEAU ANNEE 2019-20 (STAGE DU 6 JANVIER AU 19 JUIN 2020)

Titre du sujet de stage : Régulation de l'homéostasie cutanée par le métabolisme du céramide: rôle dans l'échappement des mélanomes au système immunitaire

Nom, adresse de l'unité ou de l'entreprise d'accueil / Nom du responsable de l'unité ou de l'entreprise :

Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse
UMR1037 Inserm/Université Toulouse III
ERL5294 CNRS
Oncopôle de Toulouse
2 avenue Hubert Curien
CS 53717
31037 TOULOUSE CEDEX 1 - FRANCE

Nom, adresse de l'équipe ou service d'accueil/ Nom, tel, adresse e-mail du responsable d'équipe ou de service à contacter :

Equipe « Sphingolipides, Métabolisme, Mort cellulaire et Progression tumorale »
Pr. Thierry Levade & Dr. Nathalie Andrieu

Contacts :

Dr Nathalie Andrieu, PhD, DR2 Inserm
Tel: (33) 5 82 74 16 20
Email: nathalie.andrieu@inserm.fr
ou

Dr Joelle Riond, PhD, CR1 CNRS
Tel : (33) 5 82 74 16 18
Email : joelle.riond@inserm.fr

Nom, qualité et coordonnées du tuteur de stage :

Dr Nathalie Andrieu-Abadie
Tel: (33) 5 82 74 16 20
Email: nathalie.andrieu@inserm.fr

&

Dr. Joelle Riond
Tel : (33) 5 82 74 16 18
Email : joelle.riond@inserm.fr

Sujet de stage (une dizaine de ligne) :

Le mélanome est la cause principale de mortalité parmi les tumeurs cutanées malignes. C'est une tumeur fortement immunogène, et la présence de lymphocytes T infiltrant la tumeur (TILs) est reconnue comme un facteur de bon pronostic (1). Cependant, certaines tumeurs primaires

échappent au contrôle par le système immunitaire et métastasent et/ou récidivent après exérèse. Un des défis majeurs du traitement du mélanome cutané est donc d'identifier les mécanismes moléculaires qui régulent l'infiltrat immunitaire au niveau de la lésion primaire afin d'anticiper la progression tumorale et faciliter les décisions thérapeutiques.

Notre équipe a montré que le métabolisme du céramide est fortement altéré dans les mélanomes dès les premiers stades de la maladie. Ces modifications favorisent la production et la sécrétion d'un oncométabolite, la sphingosine-1-phosphate (S1P) (2) qui modifie le microenvironnement tumoral, via les récepteurs S1PR. Nos résultats récents montrent que la S1P réduit l'expression de la E-cadhérine à la surface des kératinocytes dans l'épiderme, en stimulant l'expression de facteurs de transcription de la famille de Snail. Ces effets sont bloqués par des antagonistes des récepteurs S1P2/3. Nos données de transcriptomique (RNAseq) ainsi que celles d'autres groupes (3) montrent que la S1P modifie fortement le profil d'expression génique des kératinocytes. Or, les kératinocytes sont des acteurs cellulaires majeurs de l'immunité cutanée via la sécrétion de nombreuses cytokines et chimiokines ainsi que par la rétention des lymphocytes T résidents mémoires (TRM) au niveau de l'épiderme. En effet, les TRM expriment à leur surface l'intégrine $\alpha E(CD103) \beta 7$ qui interagit avec la E-cadhérine des kératinocytes et permet l'adhésion des lymphocytes T aux kératinocytes (4).

L'objectif général de ce projet sera d'analyser le rôle de la S1P sur la réponse immunitaire dans l'épiderme en étudiant, en particulier, ses effets sur les interactions entre les kératinocytes et les lymphocytes T. Dans ce contexte, ce projet de master vise à étudier les effets de la S1P sur: i- l'expression de chimiokines et de molécules immunomodulatrices dans les kératinocytes de l'épiderme, ii- le recrutement des lymphocytes T par les kératinocytes, in vitro et dans un modèle de peaux reconstruites, et iii- l'adhésion des lymphocytes T CD103+ aux kératinocytes. Toutes ces expériences seront menées en parallèle en présence d'antagonistes des récepteurs S1P2/3, afin de déterminer si la modulation pharmacologique de l'axe S1P/S1PR pourrait être envisagée pour le traitement des tumeurs chez les patients porteurs d'un mélanome primaire.

Technologies utilisées :

Biologie cellulaire et moléculaire: culture cellulaire, RT-PCR quantitative, immunofluorescence, immunohistochimie, microscopie confocale, cytométrie en flux, RNA interférence, Biochimie des protéines: Western blot

Mots clés : Mélanome ; immunothérapie ; métabolisme ; résistance ; lymphocyte

Publications d'intérêt si possible (5 maxi) :

- 1 - Schatton T et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and their significance in melanoma prognosis. *Methods Mol Biol.* 2014;1102:287-324.
- 2- Albinet V et al. Dual role of sphingosine kinase-1 in promoting the differentiation of dermal fibroblasts and the dissemination of melanoma cells. *Oncogene* 2014;33:3364-73.
- 3- Oizumi A et al. Pseudomonas-derived ceramidase induces production of inflammatory mediators from human keratinocytes via sphingosine-1-phosphate. *PLoS One* 2014 Feb 25;9(2):e89402.
- 4- Watanabe R et al. Human skin is protected by four functionally and phenotypically discrete populations of resident and recirculating memory T cells. *Sci Transl Med.* 2015 Mar 18;7(279):279ra39.