

Contact: B. Robaye, IRIBHM Gosselies 02 655 9822; brobaye@ulb.ac.be

J.E. Dumont, IRIBHM Erasme/Gosselies 02 5554134; jedumont@ulb.ac.be

PROJET 1

Physiologie thyroïdienne : génération d'un nouveau modèle de souris transgénique surexprimant le système générateur d'H₂O₂ DUOX/DUOXA

X. Dedeken, F. Miot, J.E. Dumont

Malgré un taux de prolifération faible des thyrocytes, des lésions tumorales sont fréquemment retrouvées dans la thyroïde. L'irradiation est le seul facteur de risque identifié dans l'étiologie du cancer thyroïdien. Cependant, la plupart des patients atteints de tumeurs malignes n'ont pas été exposés à des doses de radiation significatives. De nombreuses études suggèrent que le peroxyde d'hydrogène produit à des concentrations élevées pendant la synthèse des hormones thyroïdiennes pourrait favoriser le développement de cancers. Toutefois, aucune preuve d'un effet carcinogène de l'H₂O₂ n'a encore pu être démontrée dans un modèle *in vivo*.

Au cours de ce projet, nous nous proposons de créer un nouveau modèle animal surexprimant le système générateur d'H₂O₂ thyroïdien DUOX/DUOXA. Ces souris transgéniques combineront les systèmes conditionnel (Cre/LoxP) et inductible (Tet-On) intégrés dans le locus ROSA26. Après croisement avec des souris exprimant la Cre spécifiquement dans la thyroïde et induction par la doxycycline, les conséquences pathologiques d'une exposition chronique à l'H₂O₂ seront étudiées aux niveaux cellulaires et moléculaires (statut thyroïdien, histopathologie, expressions géniques...). Les maladies induites par le stress oxydatif seront exacerbées par des traitements avec des antithyroïdiens, des régimes pauvres en iode et/ou en sélénium ou par croisement avec des souris déficientes en systèmes antioxydants. Afin de favoriser la carcinogenèse, les animaux pourront être croisés avec des souris p53 KO ou d'autres modèles de cancers thyroïdiens. Les effets bénéfiques possibles par l'arrêt de la doxycycline ou induits par des molécules antioxydantes (N-acétyl-cystéine, vitamine C, vitamine E, inhibiteurs des NOX/DUOX) seront aussi investigués. Enfin, le croisement de ces nouvelles souris avec d'autres animaux exprimant la Cre constitueront de nouveaux outils très utiles afin d'explorer les conséquences d'une accumulation d'H₂O₂ dans d'autres maladies.

Dans le cadre d'un mémoire, le travail consiste à générer et caractériser un modèle de souris transgénique.

Références:

Dedeken X, *antiox redox signal* 20, 2776, 2014

Raad, *Free Rad Biol Med* 56,216, 2013

Hoste, *Exp cell res* 318,2353, 2012

Contact : X. DEDEKEN, xdedeken@ulb.ac.be , 02 5554151

PROJET 2

Contrôle de la captation d'iodure par la thyroïde et le cancer thyroïdien

J. Vansande, R. Beauwens, L. Twyffels, V. Kruys, JE. Dumont

Le but du travail est de définir les composantes d'un processus biologique afin d'optimiser des tests et traitements médicaux.

Comme démontré par le laboratoire d'accueil, la captation d'iodure (transport) par la thyroïde dont dépendent la scintigraphie diagnostique et le traitement au radioiode, résulte de l'effet additif du transport à la base de la cellule folliculaire (NIS) et de la diffusion facilitée de l'iodure à l'apex (TMEM). Ces 2 variables peuvent être mesurées indépendamment par l'influx et l'efflux d'¹³¹I sur deux types cellulaires in vitro: la lignée thyroïdienne de rat PCCL3 et des cellules CHO exprimant NIS et/ou TMEM. Nous nous proposons de définir les régulations aiguës de ces deux variables par les conditions de milieu et les principales voies de signalisation (AMPc, Ca⁺⁺, diacylglycérol, tyrosine kinases, etc) et leur modulation par différents traitements pharmacologiques. Le rôle d'enzymes clés sera testé en inhibant leur expression par la technologie CRISP/cas9. Ces résultats seront étendus dans la mesure de la disponibilité d'échantillons, à la thyroïde humaine in vitro. Ils permettront l'essai d'une approche pharmacologique spécifique chez l'homme.

Référence: Twyffels L, Amer J Physiol. Cell Physiol. 307, C1102, 2014

Contact : JE DUMONT, jedumont@ulb.ac.be 02 555 41 34

PROJET 3

Etude de la formation d'un épithélium serré par des cellules de lignée thyroïdienne

R. Beauwens, J. Van Sande, JE. Dumont

Ce travail a pour but de créer un modèle in vitro d'épithélium thyroïdien manipulable du point de vue physiologique et moléculaire et de répondre à la question suivante:

Which are the determinants of the **tight junction** that allow the maintenance of a tight epithelium → 2D culture (polarized flat sheet on filter).

Determine each known tight junction protein expressed in native rat thyroid and in PCC13 cells or FRTL5 cells. Are the main constituents of the tight junction (occluding, JAM,

claudin, ZO proteins) expressed? To be compared to a thyroid follicle (human or rat) by histology first and also RT-PCR and western blotting. The observations can also be compared with renal cell line making spontaneously tight epithelium on filters. In flat sheet culture (2D), the role of ZONAB protein will be investigated by siRNA knockdown or CRIPR/cas9 gene editing.

Ce travail de mémoire conduirait à une caractérisation ultérieure dans le tissu humain et au développement d'une approche pharmacologique.

Référence: Twyffels L, Am. J. Physiol. Cell Phys, 307, C 1102, 2014

Contact: JE. Dumont, jedumont@ulb.ac.be 02 555 4134

PROJET 4

Signatures moléculaires des tumeurs thyroïdiennes: de la biologie fondamentale à la clinique

C. Maenhaut

Comprendre les changements génétiques qui sous-tendent la carcinogenèse et la progression tumorale nécessite de définir le phénotype moléculaire des cancers, et le développement constant de nouvelles techniques de biologie moléculaire (en particulier du « next generation sequencing ») a permis des avancées considérables dans ce domaine de recherche.

Nous travaillons sur les tumeurs issues des cellules folliculaires thyroïdiennes. Ce sont les tumeurs endocrines les plus fréquentes. Elles comportent un éventail de phénotypes bien définis, avec des taux variables de croissance, de différenciation et d'agressivité biologique. Les principaux sont les adénomes autonomes hyperfonctionnels et les adénomes folliculaires froids, tous deux des tumeurs bénignes encapsulées, et les carcinomes, tumeurs malignes. Ces derniers peuvent être subdivisés en carcinomes folliculaires ou papillaires, encore partiellement différenciés, et qui peuvent tous deux évoluer en carcinomes anaplasiques, totalement dédifférenciés. En outre, un effet causal de l'environnement a été démontré: l'irradiation est à l'origine des cancers thyroïdiens papillaires "post-Tchernobyl". Les cancers thyroïdiens anaplasiques ou détectés chez des sujets jeunes sont caractérisés par une progression rapide, sont résistants aux chimiothérapies conventionnelles, et ont un pronostic d'évolution très sombre. L'évolution clinique des tumeurs thyroïdiennes varie énormément en fonction de leur type, et il est donc important de pouvoir établir un diagnostic fiable pour les divers sous-types de tumeurs. Parmi les nodules thyroïdiens extrêmement fréquents (jusqu'à 40% parmi les gens de plus de 60 ans), les 5 % de lésions malignes (carcinomes folliculaires) sont difficiles à diagnostiquer, ce qui conduit à beaucoup de résections chirurgicales qui se révèlent à posteriori inutiles (environ 80 %). Actuellement, le diagnostic de malignité repose sur l'examen anatomo-pathologique de biopsies à l'aiguille fine (cytoponctions) et sur l'appréciation subjective de ce matériel. Le besoin de tests objectifs permettant de définir la nature de la pathologie est donc important.

Notre recherche consiste à analyser les profils moléculaires (ARNm, miARN) des tumeurs thyroïdiennes et de leurs métastases, afin d'une part d'identifier des gènes impliqués dans la progression tumorale, et d'autre part de définir des nouveaux marqueurs moléculaires pour le diagnostic et des nouvelles cibles thérapeutiques potentielles.

Plus précisément, nous sommes actuellement focalisés sur

- la caractérisation du rôle fonctionnel de certains miARNs sous-exprimés dans les cancers thyroïdiens papillaires
- la validation d'une signature diagnostique de miRNA qui permettrait de distinguer tumeurs thyroïdiennes bénignes et malignes.

Les techniques expérimentales utilisées sont essentiellement des techniques de biologie moléculaire (qRT-PCR, séquençage...) et cellulaire (culture cellulaire, western blotting, immunohistochimie...).

Les étudiants intéressés peuvent prendre contact pour discuter plus en détail des projets en cours au laboratoire et définir un sujet de mémoire.

Références

1. Hebrant A., Dom G., Dewaele M., Andry G., Trésallet C., Leteurtre E., Dumont J.E., Maenhaut C. (2012) mRNA expression in papillary and anaplastic thyroid carcinoma: molecular anatomy of a killing switch. *PLoS ONE* 7(10):e37807. doi: 10.1371.
2. Hebrant A., Floor S., Saiselet M., Antoniou A., Desbuleux A., Snyers B., La C., de Saint Aubain N., Leteurtre E., Andry G., Maenhaut C. (2014) miRNA expression in anaplastic thyroid carcinomas. *PLOS ONE* 9 (8), e103871.
3. Floor S., Hebrant A., Pita J., Saiselet M., Trésallet C., Libert F., Andry G., Dumont J.E., van Staveren W., Maenhaut C. (2014) miRNA expression may account for chronic but not for acute regulation of mRNA expression in human thyroid tumor models. *PLOS ONE*, 9 (11), e111581.
4. Le Pennec S., Konopka T., Gacquer D., Fimereli D., Tarabichi M., Tomás G., Savagner F., Decaussin-Petrucci M., Trésallet C., Andry G., Larsimont D., Detours V., Maenhaut C. (2015) Intratumor heterogeneity and clonal evolution in an aggressive papillary thyroid cancer and matched metastases. *Endocrine Related Cancer* 22, 205-216.
5. Saiselet M., Gacquer D., Spinette A., Craciun L., Decaussin-Petrucci M., Andry G., Detours V., Maenhaut C. (2015) New global analysis of the microRNA transcriptome of primary tumors and lymph node metastases of papillary thyroid cancer. *BMC Genomics* 16, 828.

Contact : C. Maenhaut, cmaenhau@ulb.ac.be, 02 555 4137

IRIBHM – Unité de Cancérologie Moléculaire, Campus Erasme

<http://iribhm.org/>

<http://www.ulb.ac.be/rech/inventaire/unites/ULB205.html>