

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : **DUBREZ**

Prénom : **Laurence**

Section CNU : **35**

Grade : **Chargée de recherche Hors classe**

HDR : Date de soutenance **janvier 2010** Discipline : **Biologie cellulaire et moléculaire**

l'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

CTM UMR1231, UFR Sciences de Santé,

7 boulevard Jeanne d'Arc

21000 Dijon

Tel : 06 73 35 70 38

Email : laurence.dubrez@ube.fr

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : **CTM UMR1231, Inserm/EBE**

Directeur : **François Ghiringhelli**

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu) :

CTM UMR1231 Inserm/UBE, Equipe HSP-pathies,

- localisation : **UFR de Santé**

- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu : **Laurence DUBREZ**

- adresse courriel du contact scientifique : **laurence.dubrez@ube.fr**

- titre du projet : **Rôle du complexe E3-ubiquitine ligase cIAP1/TRAF2 dans la signalisation du TGFβ : activité antifibrotique d'inhibiteurs de la liaison cIAP1-TRAF2 (cITIns).**

- description du projet (2 pages maximum)

Le TGFβ (Transforming growth factor-β) est une cytokine pléiotrope exprimé de façon ubiquitaire. Dans un organisme adulte, il contribue fortement à l'homéostasie. C'est un régulateur critique de la réponse inflammatoire, il contribue à la résolution de l'inflammation et à la cicatrisation des tissus. L'activité du TGFβ est fortement dépendant du contexte cellulaire. Il inhibe la prolifération, favorise la différenciation et la mort cellulaire des cellules épithéliales et mésothéliales normales, il stimule la différenciation de fibroblastes en myofibroblastes et la production de matrice extracellulaire, il inhibe la

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

prolifération et l'activation des lymphocytes T, il bloque l'activité cytotoxique des cellules NK (natural killers) et il inhibe le recrutement, la différenciation et l'activation des macrophages.

Une dérégulation de la signalisation du TGF β a été impliquée dans le développement des maladies tumorales et de pathologies fibrotiques. Au cours de l'oncogenèse, les mutations génétiques ou les anomalies épigénétiques acquises induisent une résistance des cellules tumorales à l'effet anti-prolifératif du TGF β . La sécrétion de TGF β dans le micro-environnement tumoral par les cellules tumorales et les fibroblastes infiltrant les tumeurs (CAF) inhibe la réponse immunitaire innée et adaptative contribuant à l'échappement des cellules tumorales à la régulation par le système immunitaire. Le TGF β présent dans le micro-environnement tumoral peut conduire à la différenciation de cellules épithéliales et de fibroblastes infiltrant les tumeurs en cellules mésenchymateuses produisant les protéases, cytokines et chimiokines favorisant la prolifération, migration et l'angiogenèse et *in fine* la croissance tumorale et l'invasion métastatique.

Une dérégulation de la signalisation du TGF β contribue au développement de pathologies fibrotiques. La fibrose est une maladie chronique caractérisée par une accumulation excessive progressive de collagène dans l'organe affecté. Elle conduit à une perte de fonction de l'organe touché et est souvent associée à forte morbidité et mortalité. Au niveau pulmonaire, la fibrose la plus fréquente est idiopathique (FPI : fibrose pulmonaire idiopathique). Les traitements existants permettent de retarder modérément le déclin de la fonction de l'organe mais ne permettent pas la guérison. Les mécanismes moléculaires conduisant à une dérégulation de la signalisation du TGF β dans la FPI sont mal connus et l'identification des régulateurs, cibles thérapeutiques potentiels, restent une question importante.

Nos travaux ont montré un rôle régulateur du complexe cIAP1/TRAF2 (cellular inhibitor of apoptosis 1/tumor necrosis factor receptor associated factor) dans la signalisation du TGF β . Dans les cellules épithéliales, ces protéines sont recrutées au niveau du complexe du récepteur au TGF β et permettent l'assemblage des plateformes de signalisation conduisant à la production de protéines de la matrice extracellulaire et de collagène. Une analyse transcriptomique *in-silico* a montré une forte surexpression du gène codant cIAP1 dans des échantillons de tissus humains de poumon atteints de FPI par rapport aux tissus contrôles. La surexpression de cIAP1 a été confirmée dans un modèle murin de fibrose pulmonaire.

cIAP1 et TRAF2 forment un complexe à activité E3-ubiquitine ligase. Il est capable de conjuguer des chaînes d'ubiquitines sur une protéine cible. Ces chaînes forment un signal permettant la formation de plateformes de signalisation. Des antagonistes de cIAP1 sont actuellement disponibles mais ces molécules ne sont pas spécifiques, capables de bloquer différents membres de la famille des IAP. Des molécules capables de bloquer spécifiquement la liaison cIAP1/TRAF2 sont en cours de développement dans notre équipe.

L'objectif du projet de thèse est :

- 1) d'analyser l'importance de l'activité E3-ubiquitine ligase de cIAP1/TRAF2 dans la signalisation du TGF β dans les cellules épithéliales. Nous rechercherons les

protéines ciblent de l'ubiquitination par cIAP1/TRAF2 et caractériserons cette ubiquitination (acides aminés cibles, nature des chaînes d'ubiquitines).

- 2) Nous étudierons la spécificité de la régulation de la signalisation du TGF β par cIAP1/TRAF2. L'activité du TGF β est très dépendant du contexte cellulaire. Nous élargirons notre étude en analysant l'influence des inhibiteurs de cIAP1/TRAF2 en cours de développement dans la signalisation du TGF β dans des fibroblastes et les lymphocytes T.
- 3) Nous évaluerons l'influence de cIAP1/TRAF2 dans le développement de la fibrose pulmonaire. Une analyse transcriptomique *in-silico* a montré une forte surexpression du gène codant cIAP1 dans des échantillons de tissus humains de poumon atteints de FPI par rapport aux tissus contrôles. La surexpression de cIAP1 a été confirmée dans un modèle murin de fibrose pulmonaire. Nous caractériserons les cellules qui surexpriment cIAP1 par une analyse en immunofluorescence complétée par une analyse transcriptomique sur cellules isolées (single cell RNA sequencing)
- 4) L'efficacité antifibrotique des molécules inhibitrices de cIAP1/TRAF2 en cours de développement sera évaluée. Les composés seront évalués dans un modèle murin de fibrose pulmonaire

- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)

Financement acquis :

- Contrat Ligue contre le cancer, Région Grand Est Bourgogne Franche-Comté (CCIR Est) : 30 000€ en 2023, renouvelable en 2025
- Budget récurrent Inserm / UBE : environ 15 000/an
- Ce travail sera en partie financé par un financement Régional Bourgogne-Franche comté dans le cadre du programme « structuration de la recherche 2024 » : environ 70 000€ / 3 ans

Financement demandé :

- ANR : lettre retenue, réponse attendue été 2025

- connaissances et compétences requises

- Analyse de la signalisation cellulaire
- Test d'ubiquitination
- Culture tissulaire *ex-vivo*
- Expérience sur animaux (la formation expérimentation animale sera proposée en 1^{ère} année de thèse)

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

Le TGF β (Transforming growth factor- β) est une cytokine pléiotrope exprimée de façon ubiquitaire. Il contribue à la résolution de l'inflammation et à la cicatrisation des tissus. L'activité du TGF β est fortement dépendant du contexte cellulaire. Il inhibe la prolifération, favorise la différenciation et la mort cellulaire des cellules épithéliales et mésenchymateuses normales, il stimule la différenciation de fibroblastes en myofibroblastes et la production de matrice extracellulaire, il inhibe la prolifération et l'activation des lymphocytes T, il bloque la cytotoxicité des cellules NK (natural killers) et il inhibe le recrutement, la différenciation et

l'activation des macrophages. Une dérégulation de la signalisation du TGF β a été impliquée dans le développement de pathologies fibrotiques comme la fibrose pulmonaire idiopathique. Nos travaux ont montré un rôle régulateur du complexe cIAP1/TRAF2 (cellular inhibitor of apoptosis 1/tumor necrosis factor receptor associated factor) dans la signalisation du TGF β dans des cellules épithéliales. Des inhibiteurs du complexe cIAP1/TRAF2 ont été développés. L'objectif du projet est (i) de caractériser les mécanismes moléculaires de régulation de la voie intracellulaire de signalisation du TGF β par cIAP1/TRAF2 dans les cellules épithéliales, dans les fibroblastes et lymphocytes ; (ii) d'évaluer l'efficacité des inhibiteurs développés dans le traitement de la fibrose pulmonaire dans des modèles précliniques murins.

TGF β (Transforming growth factor- β) is a pleiotropic cytokine expressed ubiquitously. It contributes to the resolution of inflammation and tissue healing. The activity of TGF β is dependent on cellular context. It inhibits the proliferation, promotes differentiation, and induces cell death in normal epithelial and mesothelial cells. It stimulates the differentiation of fibroblasts into myofibroblasts and the production of extracellular matrix. It inhibits the proliferation and activation of T lymphocytes, blocks the cytotoxicity of NK (natural killer) cells, and inhibits the recruitment, differentiation, and activation of macrophages. Dysregulation of TGF β signaling has been implicated in the development of fibrotic pathologies such as idiopathic pulmonary fibrosis. Our work has shown a regulatory role of the cIAP1/TRAF2 (cellular inhibitor of apoptosis 1/tumor necrosis factor receptor-associated factor) complex in TGF β signaling in epithelial cells. Inhibitors of the cIAP1/TRAF2 complex have been developed. The objective of the project is (i) to characterize the molecular mechanisms of regulation of the intracellular TGF β signaling pathway by cIAP1/TRAF2 in epithelial cells, fibroblasts, and lymphocytes; (ii) to evaluate the efficacy of the developed inhibitors in the treatment of lung fibrosis in a murine preclinical model.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Biochimie

Biologie

Mots clés :

TGF, fibrose, signalisation cellulaire.