

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères) : Rôle des protéines autophagiques ATG8 dans la modulation du microenvironnement tumoral et leur impact sur les mécanismes de croissance tumorale et de résistance aux traitements.

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

Directeur de thèse HDR :

Nom : **DESPOUY**

Prénom : **Gilles**

Section CNU : 64

Grade : *Professeur*

HDR : Date de soutenance 15/12/2014. Discipline : mécanismes cellulaires et moléculaires de l'oncogénèse

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

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : *Université Marie et Louis Pasteur - UFR Science et Technique Bâtiment DF, Bureau 128DF 16, Route de Gray, 25035 Besançon Cedex, France*
gilles.despouy@univ-fcomte.fr

03-81-66-62-83

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : *UMR RIGHT INSERM 1098, Pr Olivier Adotévi*

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : **HOGNON**

Prénom : **Cécilia**

Section CNU : 64

Grade : *Maître de conférences*

HDR : non ☒ ; oui ☐ Date de soutenance..... Discipline :

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : *Université Marie et Louis Pasteur - UFR Science et Technique Bâtiment DF, Bureau 126DF 16, Route de Gray, 25035 Besançon Cedex, France*
cecilia.hognon@uml.fr

03-81-66-65-44

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : *UMR RIGHT INSERM 1098, Pr Olivier Adotévi*

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

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.

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu) : *UMR RIGHT INSERM 1098* Groupe AETIC, dirigé par le Pr Michaël Guittaut
- localisation : *16, Route de Gray, 25035 Besançon Cedex*
- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu : Pr Gilles DESPOUY & Dr Cécilia HOGNON
- adresse courriel du contact scientifique : gilles.despouy@univ-fcomte.fr

- titre du projet : Rôle des protéines autophagiques ATG8 dans la modulation du microenvironnement tumoral et leur impact sur les mécanismes de croissance tumorale et de résistance aux traitements.

- description du projet (2 pages maximum)

Ce projet s'inscrit dans une démarche visant à étudier le rôle de l'autophagie dans la progression tumorale en lien avec le microenvironnement tumoral (MET), en mettant l'accent sur les protéines autophagiques de la famille ATG8, notamment LC3 et GABARAP. L'autophagie est un processus catabolique conservé permettant la dégradation et le recyclage des constituants intracellulaires via la formation d'autophagosomes et leur fusion avec les lysosomes. Ce mécanisme joue un rôle fondamental dans le maintien de l'homéostasie cellulaire, la gestion du stress oxydatif, le métabolisme énergétique et la réponse immunitaire. Les protéines ATG8 sont principalement impliquées dans la sélection des cargos autophagiques, le trafic vésiculaire et la sécrétion non conventionnelle.

En cancérologie, l'autophagie présente un rôle ambivalent. Dans les phases précoces de la transformation cellulaire, elle agit comme un mécanisme suppresseur de tumeur en limitant l'accumulation de dommages cellulaires, d'organites défectueux et d'espèces réactives de l'oxygène, contribuant ainsi à la stabilité génomique. Toutefois, dans les tumeurs établies, elle peut favoriser la survie des cellules cancéreuses en leur permettant de s'adapter à des conditions de stress métabolique, d'hypoxie ou de privation nutritionnelle. De nombreuses études ont montré que l'autophagie contribue également à la résistance aux chimiothérapies et aux thérapies ciblées, soulignant son importance comme mécanisme d'adaptation tumorale. Les protéines ATG8 jouent également un rôle complexe et ambivalent dans le cancer. Les sous-familles, notamment GABARAP (souvent suppresseur tumoral) et LC3, possèdent des fonctions spécifiques influençant la progression tumorale et l'immunité antitumorale. (Jacquet M et al. *Autophagy* 2021)²

Au sein du microenvironnement tumoral, les cellules cancéreuses interagissent de manière dynamique avec les fibroblastes associés au cancer (CAF), les cellules immunitaires, les cellules endothéliales et les composants de la matrice extracellulaire. Ces interactions bidirectionnelles participent à la structuration d'une niche permissive favorisant la croissance tumorale, l'angiogenèse, l'invasion locale et la dissémination métastatique. Le MET constitue également un déterminant majeur de la résistance thérapeutique. L'autophagie apparaît aujourd'hui comme un régulateur clé de cette communication intercellulaire : elle influence la sécrétion de cytokines, la présentation antigénique, le remodelage de la matrice extracellulaire et le métabolisme stromal. Cependant, la majorité des études manque d'analyses incluant l'investigation de multiples composants stromaux (par exemple : cellules immunitaires, CAF, cellules cancéreuses, etc.) et s'est concentrée sur des types cellulaires et/ou des molécules uniques. (Front Cell Dev Biol . 2024 Jan 3;11:1274682).

Les arguments en faveur d'un rôle des protéines ATG8 dans la communication tumeur–microenvironnement reposent principalement sur leurs rôles dans : la sécrétion de signaux tumoraux, les vésicules extracellulaires, la réponse immunitaire, les échanges métaboliques et les cellules stromales du microenvironnement tumoral.

L'objectif principal de ce projet est d'élucider le rôle spécifique des protéines ATG8 dans les mécanismes de communication entre la tumeur et son microenvironnement et de déterminer de nouvelles cibles thérapeutiques. Nous nous focaliserons dans un premier temps sur les rôles des protéines ATG8 dans les processus liés aux CAF, notamment la transdifférenciation et l'activation des CAF (expertises présentes dans notre unité groupe C. Borg). Dans un second temps, des modèles d'organoïdes tumoraux seront utilisés afin de reproduire fidèlement l'architecture tridimensionnelle et les interactions cellulaires du MET. Ces systèmes 3D permettent de mieux mimer l'hétérogénéité tumorale, les gradients métaboliques et les interactions cellule-cellule comparativement aux cultures bidimensionnelles classiques. Une collaboration avec la plateforme ORGALille 3D organoid platform (Audrey Vincent-Soetens) est envisagée pour la mise en œuvre et l'optimisation de ces modèles.

L'édition génomique par CRISPR-Cas9 permettra de moduler spécifiquement l'expression de chaque protéines ATG8 soit dans les cellules cancéreuses soit dans les cellules du MET (CAF) afin d'évaluer leurs fonctions biologiques dans ce contexte. Des lignées cellulaires knock-out seront générées pour étudier l'impact de la perte des protéines ATG8 sur la communication intercellulaire, la plasticité tumorale et la réponse aux traitements. L'analyse fonctionnelle inclura des analyses transcriptomiques et protéomiques, ainsi que l'étude des profils sécrétoires.

Parallèlement, une cartographie des réseaux d'interactions moléculaires des protéines ATG8 sera réalisée afin d'identifier leurs partenaires protéiques et les voies biologiques associées. Deux approches complémentaires seront mises en œuvre. Premièrement, des expériences de BioID (proximity-dependent biotinylation identification), technique maîtrisée au laboratoire, permettront d'identifier les partenaires proximaux des protéines ATG8 dans leur environnement cellulaire natif (cellules cancéreuses ou cellules du MET) (collaboration avec Etienne Coyaud, Université de Lille). Deuxièmement, des modélisations structurales et des analyses de docking moléculaire (compétences de Cécilia Hognon) permettront de prédire les interfaces d'interaction protéique et les déterminants structuraux impliqués dans la reconnaissance des partenaires.

L'intégration de ces données moléculaires avec les observations biologiques issues des modèles d'organoïdes permettra de mieux comprendre comment les protéines ATG8 orchestrent la communication entre cellules tumorales et stromales. Cette approche intégrative contribuera à définir les mécanismes par lesquels l'autophagie participe à l'établissement d'un microenvironnement tumoral favorable à la progression tumorale, à l'évasion immunitaire et à la résistance thérapeutique.

Enfin, à plus long terme, ce projet vise à identifier des candidats médicaments capables de cibler les protéines ATG8 et d'inhiber leurs interactions protéiques. Un criblage *in silico* combinant intelligence artificielle et docking moléculaire (compétences de Cécilia Hognon) sera mis en œuvre pour sélectionner des composés susceptibles de perturber ces interactions critiques. Les molécules les plus prometteuses seront ensuite évaluées dans les modèles d'organoïdes tumoraux afin d'analyser leur impact sur la communication tumorale, la viabilité cellulaire et la sensibilité aux traitements anticancéreux.

Compétences de Cécilia : Modélisation moléculaire des protéines, des acides nucléiques et des membranes (études structurales, interactions, stabilités, etc.). Étude de la réactivité chimique entre molécules et protéines ou acides nucléiques (faisabilité des réactions, mécanismes réactionnels, étapes intermédiaires). Docking moléculaire et IA pour la prédiction de l'interaction potentielle entre un médicament et sa cible.

Compétences de Gilles : Étude du lien entre l'autophagie et les mécanismes moléculaires du cancer. Spécialisé dans l'étude des protéines ATG8, protéines clés de l'autophagie sélective,

et dans l'analyse de leurs rôles dans la réponse aux stress cellulaire, le cancer, l'agressivité tumorale et la TEM. Articles en lien avec le sujet :

- 1) Jacquet M et al. GABARAPL1 inhibits EMT through SMAD-targeted autophagy degradation. *Biology* 2021, Sep 24;10(10):956. doi: 10.3390/biology10100956. (IF: 5.1)
- 2) Jacquet M et al. The functions of ATG8 proteins in autophagy and cancer: linked or unrelated? *Autophagy* 2021, Mar;17(3):599-611. doi: 10.1080/15548627.2020.1749367. (IF: 16.01)

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

Reliquat financement Ligue contre le cancer 15 000 euros (acquis en 2025), financement fond propre équipe de recherche, Demande ligue contre le cancer à venir. Demande d'allocation d'heure de calcul aux centres nationaux (CINES, IDRIS et TGCC).

- Connaissances et compétences requises

Bases en biologie moléculaire et cellulaire et signalisation. Techniques utilisées en routine : qRT-PCR, Western blot, IP, IF et ELISA.

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

Ce projet vise à étudier le rôle de l'autophagie dans la progression tumorale en lien avec le microenvironnement tumoral (MET), en se concentrant sur les protéines ATG8, notamment LC3 et GABARAP. L'autophagie, processus catabolique essentiel au maintien de l'homéostasie cellulaire, joue un rôle ambivalent en cancérologie : elle peut freiner la formation tumorale initiale en éliminant les dommages cellulaires, mais favoriser la survie des tumeurs établies face au stress métabolique et aux traitements. Les protéines ATG8 régulent la sélection des cargos, le trafic vésiculaire et la sécrétion non conventionnelle, influençant à la fois la survie cellulaire et la réponse immunitaire.

Dans le MET, les interactions entre cellules tumorales, fibroblastes associés au cancer (CAF), cellules immunitaires et matrice extracellulaire créent une niche favorable à la croissance, l'invasion et la résistance thérapeutique. L'autophagie y joue un rôle clé en modulant la sécrétion de cytokines, la présentation antigénique et le remodelage stromal. Ce projet s'appuiera sur des organoïdes tumoraux 3D pour reproduire fidèlement les interactions cellulaires et sur l'édition génomique CRISPR-Cas9 pour étudier les effets de la perte de ces protéines sur la communication intercellulaire et la réponse aux traitements.

Des analyses transcriptomiques, protéomiques et de sécrétion, ainsi que la cartographie des réseaux d'interaction des protéines ATG8 via la technique de BioID et de modélisation moléculaire, permettront de comprendre comment elles orchestrent le dialogue tumorale-stromal. Enfin, un criblage *in silico* combinant intelligence artificielle et docking moléculaire identifiera des candidats moléculaires capables de perturber ces interactions, ouvrant la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant l'autophagie et le MET pour freiner la progression tumorale et améliorer la réponse aux traitements.

This project aims to study the role of autophagy in tumor progression in relation to the tumor microenvironment (TME), focusing on ATG8 proteins, particularly LC3 and GABARAP. Autophagy, a catabolic process essential for maintaining cellular homeostasis, plays a dual role in oncology: it can hinder early tumor formation by eliminating cellular damage, but it can also promote the survival of established tumors under metabolic stress and during treatment. ATG8 proteins regulate cargo selection, vesicular trafficking, and unconventional secretion, thereby influencing both cell survival and immune responses.

Within the TME, interactions among tumor cells, cancer-associated fibroblasts (CAFs), immune cells, and the extracellular matrix create a niche that supports growth, invasion, and therapeutic resistance. Autophagy plays a key role by modulating cytokine secretion, antigen

presentation, and stromal remodeling. This project will rely on 3D tumor organoids to faithfully reproduce cellular interactions and on CRISPR-Cas9 genome editing to investigate the effects of the loss of these proteins on intercellular communication and treatment response.

Transcriptomic, proteomic, and secretome analyses, together with mapping ATG8 protein interaction networks using BioID and molecular modeling, will help elucidate how these proteins orchestrate tumor–stromal dialogue. Finally, an *in silico* screening approach combining artificial intelligence and molecular docking will identify molecular candidates capable of disrupting these interactions, paving the way for new therapeutic strategies targeting autophagy and the TME to slow tumor progression and improve treatment response.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous :

2 choix possibles maximum –les intitulés sont ceux d’ABG).

Ex : vous ne pouvez pas sélectionner uniquement informatique lorsqu’il est indiqué informatique, électronique :

- **Biologie**
- **Santé, médecine humaine, vétérinaire**

Indiquez quelques mots clés concernant votre sujet :

Autophagie, ATG8, Microenvironnement tumoral (MET), organoïdes tumoraux, résistance aux traitements et IA/Docking moléculaire