

Identification de nouvelles cibles thérapeutiques des formes agressives de carcinomes épidermoïdes cutanés (CEC) par séquençage de l'ARN en cellule unique

Hamid Rezvani, INSERM 1312, Université de Bordeaux

Notre premier objectif était **d'identifier la composition et l'hétérogénéité spatiale des formes agressives localement avancées de CEC**, notamment en disséquant la structure phénotypique d'une lésion précancéreuse et d'une lésion tumorale chez un même patient, et en identifiant les différentes sous-populations cellulaires au sein de la tumeur et de son microenvironnement immunitaire.

Notre second objectif était d'évaluer le **rôle fonctionnel des marqueurs identifiés** et de déterminer de **nouvelles cibles thérapeutiques** en ciblant les « HITs » identifiées.

Profilage multimodal des régions spatialement distinctes au sein du carcinome épidermoïde cutané avancé

Un total de 44 zones d'illumination présentant une histologie saine, précancéreuse (AK), ou un carcinome épidermoïde cutané (CEC) in situ, ou tumoral, a été identifié dans des échantillons de deux patients atteints de CEC. Pour décrypter la segmentation tissulaire, nous avons réalisé une immunocoloration utilisant la pancytokératine (PanCK) pour les cellules épithéliales, la vimentine pour les cellules en transition mésenchymateuse à la frontière d'invasion de la tumeur, et la coloration CD68 pour les macrophages localisés dans les zones saines, précancéreuses, in situ ou tumorales. Pour chaque lame, des régions d'intérêt ont été dessinées afin d'analyser l'expression du panel génique dans la tumeur (au centre ou au front d'invasion), les régions péri-tumorales ou saines, puis segmentées selon la coloration PanCK, vimentine et CD68.

Pour examiner s'il est possible de discriminer les lésions à différents stades de la carcinogenèse par rapport à leur tissu sain correspondant en se basant sur les profils d'expression génique dans les cellules CD-68+, PanCK+ ou PanCK+Vimentine+, des analyses en composantes principales ont été réalisées. Les résultats indiquent que les tumeurs et les tumeurs avancées peuvent être distinguées de leur tissu sain correspondant en se basant sur les schémas d'expression génique dans les cellules PanCK+ et CD68+. De manière intéressante, le profil d'expression génique des cellules PanCK+ trouvé dans les tumeurs pouvait être distingué de celui des cellules PanCK+ trouvées au front d'invasion. De plus, les cellules PanCK+ et PanCK+/vimentine+ au front d'invasion pouvaient être distinguées en fonction de leurs profils d'expression génique. Les gènes différenciellement exprimés ont ensuite été sélectionnés pour une analyse de l'ontologie génique. Une comparaison détaillée entre les différents clusters de cellules a montré qu'une différenciation d'expression génique selon l'organisation des jonctions cellulaires et celle de la matrice extracellulaire, la réponse immunitaire, la kératinisation et la régulation de l'activation des leucocytes.

Hétérogénéité métabolique intratumorale des cellules malignes.

Nous avons cherché à caractériser l'hétérogénéité métabolique intratumorale entre cellules cancéreuses situées au centre de la tumeur et celles en transition mésenchymateuse au front d'invasion. Lorsque les cellules épithéliales commencent leur transformation tumorale, elles cessent leur différenciation kératinocytaire. Dans le même temps, la glycolyse était régulée à la hausse et les lipides à la baisse. La comparaison des caractéristiques métaboliques des cellules PanCK+ entre la tumeur et le front d'invasion a indiqué que les cellules à l'état de transition mésenchymateuse (PanCK+, vimentine+ cellules) réorientent leurs voies métaboliques en faveur de la voie de la phosphorylation oxydative (OXPHOS).

Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que le métabolisme joue un rôle clé dans la progression du cancer. En effet, tant la transformation tumorale des lésions précancéreuses que le processus de transition épithélio-mésenchymateuse nécessitent des demandes métaboliques spécifiques, qui seront satisfaites par des mécanismes de réorientation métabolique.

Hétérogénéité métabolique dans les cellules non malignes

Nous avons ensuite exploré l'hétérogénéité métabolique des cellules non malignes. Nous avons caractérisé les caractéristiques métaboliques des macrophages dans le tissu sain par rapport à ceux situés au front d'invasion de la tumeur. Nous avons montré que plusieurs gènes étaient régulés : la glycolyse et la phosphorylation oxydative étaient régulées à la hausse dans les macrophages situés au front d'invasion par rapport aux macrophages dans le tissu sain, soulignant que les deux voies énergétiques sont activées chez les macrophages associés à la tumeur. Ainsi, de manière similaire aux cellules malignes, la réorientation métabolique des macrophages semble jouer un rôle clé dans la progression du cancer.

Pour mieux caractériser le paysage métabolique des cellules immunitaires dans le microenvironnement tumoral, nous avons réalisé une analyse de séquençage d'ARN monocellulaire (scRNA-seq) sur deux échantillons de CEC appariés à leurs lésions précancéreuses correspondantes.

L'analyse des proportions de types cellulaires immunitaires a reflété le traitement des échantillons, révélant 21 sous-ensembles de cellules. En comparant les clusters entre les lésions actiniques et la CEC, nous avons constaté que certains clusters de macrophages et de lymphocytes T avec des propriétés gamma-delta et cytotoxiques étaient enrichis dans la tumeur, tandis que les cellules B et les plasmablastes étaient appauvris. La tumeur et la lésion précancéreuse présentaient des différences dans les sous-ensembles de cellules immunitaires en phase G2M, soulignant un comportement de croissance rapide pour certaines cellules ou un état sénescence pour d'autres.

En se concentrant sur le métabolisme, nous avons constaté que la glycolyse ou la phosphorylation oxydative (OXPHOS) étaient activées dans différents sous-ensembles de monocytes/macrophages dans le cSCC invasif. D'autre part, les cellules T circulantes et les Tregs semblaient réguler à la hausse à la fois les voies de la glycolyse et de l'OXPHOS afin de passer à un état hautement prolifératif.

En résumé, nos analyses approfondies des cellules et du métabolisme dans l'environnement tumoral du CEC ont mis en lumière des interactions entre les cellules immunitaires et le cancer. Les résultats de notre analyse de séquençage d'ARN ont révélé des différences entre les lésions précancéreuses et les tumeurs, fournissant des informations clés sur la dynamique cellulaire dans cet environnement.

L'analyse des types cellulaires immunitaires a montré une augmentation de certains types de cellules, tels que les macrophages et les lymphocytes T gammadelta et cytotoxiques, dans les tumeurs, indiquant une réponse immunitaire spécifique contre les cellules cancéreuses. En parallèle, la diminution de certaines populations, comme les cellules B et les plasmablastes, suggère une régulation altérée du système immunitaire dans le contexte tumoral.

Les observations concernant la phase G2M des différentes populations cellulaires ont mis en évidence des comportements de croissance rapide pour certaines, tandis que d'autres semblaient être en état de vieillissement. Ces résultats soulignent la diversité au sein du microenvironnement tumoral, offrant des indices importants pour comprendre les mécanismes de progression tumorale.

En ce qui concerne le métabolisme, l'activation différenciée de la glycolyse et de la phosphorylation oxydative dans diverses populations de monocytes/macrophages et de lymphocytes T suggère une adaptation métabolique spécifique au contexte tumoral. Ces résultats ouvrent des perspectives pour comprendre

comment les cellules immunitaires et tumorales ajustent leur métabolisme pour soutenir leur croissance et leurs fonctions.

Ces découvertes pourraient éventuellement ouvrir la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant spécifiquement ces altérations métaboliques. Notre étude ouvre des perspectives prometteuses pour une meilleure compréhension des interactions complexes entre les cellules immunitaires et les cellules cancéreuses cutanées, ouvrant ainsi la porte à des avancées potentielles dans le traitement du CEC.