



Foie, métabolismes et cancer

Rapport Hcéres

► **To cite this version:**

Rapport d'évaluation d'une entité de recherche. Foie, métabolismes et cancer. 2009, Université de Rennes 1. hceres-02034375

HAL Id: hceres-02034375

<https://hal-hceres.archives-ouvertes.fr/hceres-02034375>

Submitted on 20 Feb 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



agence d'évaluation de la recherche
et de l'enseignement supérieur

Section des Unités de recherche

Evaluation report

Research unit:

Liver, metabolisms and cancer

University Rennes 1



February 2009



agence d'évaluation de la recherche
et de l'enseignement supérieur

Section des Unités de recherche

Evaluation report

Research unit :

Liver, metabolisms and cancer

University Rennes 1



Le Président
de l'AERES

Jean-François Dhainaut

Section des unités
de recherche

Le Directeur

Pierre Glorieux

February 2009



Evaluation report)

The research unit :

Name of the research unit : Liver, metabolisms and cancer

Requested label : UMR

N° in case of renewal :

Head of the research unit : Mr Bruno CLEMENT

University or school :

University of Rennes 1

Other institutions and research organization :

INSERM

Date(s) of the visit :

27th January 2009



Members of the visiting committee

Chairman of the committee :

Mr Jean ROSENBAUM, University of Bordeaux 2

Other committee members :

Mrs Beatrice DESVERGNE, University of Lausanne, Switzerland

Mr Matias AVILLA, University of Navarra, Spain

Mr Rolf HULTCRANTZ, University of Stockholm, Suede

Mr Jean-Marc PASCUSI, University of Montpellier 1

Mr Olivier ROSMORDUC, University of Paris 7

Mr Thierry LETELLIER, University of Bordeaux 2

Mrs Marie-Annick BUENDIA, University of Paris 6

CNU, CoCNRS, CSS INSERM, représentant INRA, INRIA, IRD.....) representatives :

Mr Jean-Charles DUCLOS-VALLEE, CNU representative

Mr Patrice CODOGNO, INSERM CSS representative

Observers

AERES scientific representative :

M. Pierre BEDOSSA

University or school representative :

M. Claude LABIT

Research organization representative (s) :

Mme Marie-Jose LEROY-ZAMIA, chargée de mission de l'INSERM



Evaluation report

1 • Short presentation of the research unit

- Number of lab members 68, including:
 - 19 researchers with teaching duties;
 - 11 full time researchers;
 - 13 engineers, technicians and administrative assistants, including 4 engineers;
 - 7 post-doctoral fellows;
 - 18 PhD students, all with funding.
- Numbers of HDR: 26
- Numbers of PhD students who have obtained their PhD during the past 4 years: 7
- Numbers of lab members who have been granted a PEDR: 5
- Numbers of “publishing” lab members: 30 sur 30

2 • Preparation and execution of the visit

8:00 to 8:30: Door-closed meeting: Committee members and AERES representative

8:30 to 9:00: Past activity and general presentation of the unit project

9:00 to 9:45: Team 1

9:45 to 10:00: Coffee break

10:00 to 10:45: Team 2

10:45 to 11:30: Team 3

11:30 to 12:15: Team 4

13:30 to 14:00: Three parallel meetings

- PhD students and postdoctoral fellows
- Engineers, technicians and administrative assistants
- Researchers

14:00 to 14:30: Door-closed meeting: Committee members, AERES representative, University, Hospital and Research Organization representatives

14:30 to 15:00: Door-closed meeting: Committee members, AERES representative, director

15:00 to 17:00: Door-closed meeting: Committee members and AERES representative

17:10 : End of the visit



3 • Overall appreciation of the activity of the research unit, of its links with local, national and international partners

This project brings together scientists from several pre-existing labs. It is almost uniquely focused on liver diseases and gathers many complementary expertises.

Most team leaders benefit from an indisputable reputation in their field, at the national and international level. This can be seen for instance when assessing their participation to invited conferences, and most notably to European projects.

There are strong, efficient, historical and ongoing connections between the lab and several clinical departments. It is envisioned that the lab will use external scientific advisors to better define its policy.

The laboratory has a very good local insertion and participates in a series of locally important projects, especially with regards to platform development. The local environment is supportive, providing every facility required for modern research.

4 • Specific appreciation team by team and/or project by project

Team 1: Iron and the liver: physiological and pathological aspects

This team has a longstanding history in research on hemochromatosis. During the years, many contributions have been made mainly though in the clinical field. In recent years they have been more oriented towards molecular biology.

The members of the team have studied the effects of differently bound iron, to transferrin or non transferrin-bound iron. They have also studied iron chelators for years. Following the description of the HFE gene they have had a major impact in increasing the knowledge on the HFE gene and the phenotype of the hemochromatosis patients suffering from the C282Y mutation.

In 2001, the members of the team were the first to find a connection between hepcidin and iron, Hepcidin had recently been detected but had previously been described as an antimicrobial peptide.

— Strengths :

The team includes many devoted persons. They deal with important questions in the field and have a wide network of collaboration in Europe, the United States and Australia. They are comparably well funded and have a big EU grant together with some of the major researchers in the field in Europe. There are three different groups in the team dealing with a number of projects each. The group working on hepcidin is the most prominent one with most projects. They are also doing most of the developmental experimental work. Their projects are up to date, they are pursuing the work they started on hepcidin and will now aim to show it is regulated in the hepatocytes by studying the promoter region for the gene.

The second group works on experimental models to show effects of iron chelators and also impact of iron chelators on cell proliferation, and influence of polyamines on cell proliferation. This group seems to be in close contact and also funded by the biomedical industry.

The third team is using the huge database on patients with hemochromatosis and their relatives (1700 pts) on which they have data files and DNA. They are using up to date technology to do SNP analyses in order to find alterations in genes involved in regulation of hepcidin production. They will also analyse these genes in 500 patients with dysmetabolic iron overload.



— Weaknesses :

On the whole, a negative side is that the team tries to embrace too many unanswered questions regarding iron and hemochromatosis. The hepcidin group is well focused and seems to have an up to date technology. However they would need some more animal models in order to be able to answer some of the questions they raise in their grant application, and would probably gain if they recruited a full time molecular biologist.

Group 2 uses standard methods to study effect of oral chelators on iron metabolism in isolated cells. The methods have not been developed much in recent years and the questions they investigate are not very modern.

Group 3 is investigating genotype/phenotype clinical problems. Some of the problems with osteoporosis in hemochromatosis patients are very prominent. Effects on joints are important and they are also addressing those problems. This group may need some more persons in order to be working more efficiently.

Team 1 has a low production of graduated PhD students.

— Recommendations :

Reduce the number of subjects under study. Better define the milestones.

Nom de l'équipe : Fer et foie - physiologie et pathologie

Note de l'équipe	Qualité scientifique et production	Rayonnement et attractivité, intégration dans l'environnement	Stratégie, gouvernance et vie du laboratoire	Appréciation du projet
B	B	A	A	B

Team 2: Stress, defense and regeneration

— Strengths :

This team is coordinated by six investigators organized in three sub-teams (two per sub-team). All of them have broad experience in the field of liver pathophysiology at the molecular or clinical level. The previous activity of these investigators has provided them with a strong technical and conceptual background relevant to the proposed research.

In terms of human resources, the three research sub-teams are well balanced in general (see Recommendations below). All include senior investigators and one or two doctoral students. The sub-team involved in more clinical studies, including four clinicians, is reinforced by the partial dedication of senior basic scientists. Although no post-docs are currently enrolled, the team offers three post-doc positions funded by different agencies/institutions.

The two sub-projects which are focused on molecular aspects are of high quality. Both use state-of-the art techniques: in vivo assessment of biological functions in genetically modified mice, detailed molecular analyses of gene expression regulation and gene/protein function, and high-throughput analyses of post-translational modifications and protein interactions. The research topics proposed in these projects are of scientific interest and also bear clinical significance.

Part of the research proposed is focused on the development of new tools for the analysis of cell function and response to drugs (Cellchip platform), gene transfer in hepatocytes and bioartificial organs. These activities have received competitive funding from national and international institutions, and are likely to result in the generation of Intellectual Property.



— Weaknesses :

The more clinically-oriented part of the project, although of value could benefit from a better definition of the experimental models and more basic science inputs. For instance, the research proposed on the ischemia/reperfusion (I/R) effects on HCC outgrowth should be revised. Also the aims of the study on the protective effects of Mangafodipir on I/R injury are not clear. This study will not lead to the generation of new significant basic knowledge, and on the other hand the potential gain of Intellectual Property on an already-registered molecule is not straightforward, nor is it specified in the proposal how this will be addressed.

Overall the number of publications of the team in high quality journals is not adequate to the number of staff scientists with full-time dedication.

— Recommendations :

The recruitment of post-doctoral investigators is strongly recommended. This will help to better coordinate with clinical researchers, and will bring leverage to the overall project. For recruitment purposes the research team should consider a broad and international diffusion of the post-doctoral positions available.

To enhance the number of publications in high quality journals, the team should pursue more in-depth molecular studies both in vitro and in vivo. In general the proposed research projects point in this direction, however the more clinically-oriented parts of the project should be revised in this sense.

Nom de l'équipe : Stress, défense et régénération

Note de l'équipe	Qualité scientifique et production	Rayonnement et attractivité, intégration dans l'environnement	Stratégie, gouvernance et vie du laboratoire	Appréciation du projet
A	A	B	A	A

Team 3 : Hepatotoxicity of xenobiotics: mechanisms and modulation by obesity

The new team arose from the association of three researchers originating from INSERM U773 (Paris), devoted to xenobiotic-induced mitochondrial dysfunction and liver diseases, and from INSERM U620, dedicated to cell defenses and xenobiotics in liver.

— Strengths :

It is natural for these two groups to join forces in order to study xenobiotic-induced liver injury, as they share common scientific interests. Their works rely on complementary approaches based on in vivo and in vitro models. The group from Paris benefits from the recognized expertise of the second one regarding metabolizing enzymes (including cytochrome P450 and glutathione S-transferase) and the establishment of in vitro models as alternative methods to study xenobiotic-induced hepatotoxicity (which is a major issue for European drug agencies). The team from Rennes on the other hand benefits from the recognized expertise of the second group regarding drug-induced mitochondrial dysfunction, steatohepatitis and the use of different murine models, which are useful to decipher the mechanisms whereby drugs and ethanol can induce liver injury.

Despite the youngness of this team, this is a good example of a synergistic “win win” situation. The project of the team also presents several tight and sound interactions with the other groups of the future Unit.

The previous activity of these investigators has provided them with a strong technical and conceptual background relevant to the proposed research. This combined expertise will be used to better predict drug-induced liver injury and to understand how some drugs are able to alter the hepatic function and thus lead to



liver diseases, especially in the context of obesity. This project based on in vivo and in vitro models is quite original in France and Europe.

Their work has significantly contributed to develop a new and original in vitro model (HepaRG cell line) allowing studying the mechanisms whereby drugs can induce long-term hepatotoxicity. However, despite the originality of this approach some caution needs to be taken into account (see Recommendations).

The team's involvement in two EU projects and several industrial projects is quite important. This ensures a good visibility in term of industrial development. One international patent is already published.

— Weaknesses :

This is a relatively small group (3 permanent researchers, 1 engineer, 1 technician) but with its good dynamics and direction, it appears to work well.

The recent publications from the two team leaders are of a lower standard than a few years ago.

— Recommendations :

Due to the smallness of the team, the recruitment of young researchers is strongly recommended.

Enhancing the contact with clinicians is also strongly encouraged.

The use and/or development of in vitro models alternative to HepaRG must be envisaged, in order to take into account a possible specificity of this cell line.

The team leaders should attend more international conferences.

Nom de l'équipe : Hépatotoxicité des xénobiotiques . mécanismes et modulation au cours de l'obésité

Note de l'équipe	Qualité scientifique et production	Rayonnement et attractivité, intégration dans l'environnement	Stratégie, gouvernance et vie du laboratoire	Appréciation du projet
B	B	B	A	B

Team 4 : Microenvironment remodelling: mechanisms and targeted biotherapies in hepatocellular carcinoma

Team 4 originates from previous Inserm Unit U620 and from a University laboratory, UPRES 3890. This team comprises 3 groups with different background and different projects: extracellular matrix remodeling in HCC and development of a Collagen 18 variant (FZC18) as a potential targeted therapy of advanced HCC (Group 1); role of inflammation (inflammasome), in the development of fibrosis associated with chronic obstructive lung disease like (Group 2) and improving radioisotopic delivery systems in HCC and new therapeutic strategies (Group 3).

— Strengths :

The report on team's previous activities shows a good level of publications with a total of 52 papers (some of them being of good level: J Clin Invest, J Clin Oncol, Hepatology, J Biol Chem, J Immunol, Cancer Res and Plos One) including 25 papers specifically on liver cancer from the team members as major authors (Hepatology, J



Nucl Med, Eur J Nucl Med) and 7 papers in collaboration with extramural teams (J Biol Chem, Cancer Res, Lancet, J Clin Oncol, NEJM).

Teaching activities have been maintained at good levels during the last 4 years: 8 Master 2 and 12 PhD students. In addition, 3 members have participated as chairmen or coordinators to University courses.

National and international collaborations have been established (including both academic and industrial collaborations). In addition the role of the team leader in the development of the National HCC Biobank and in the diffusion of the scientific knowledge in the field of liver cancer is well known.

The number of grants (INCa, ANR, ARC, Ligue...) further confirms the expertise of the team.

Group 1 develops original studies on the role of proteins from the extracellular matrix (ECM) (such as collagen 18 variants) during liver tumorigenesis and the potential therapeutic use of one of these compounds bearing identities with the frizzled receptors (FZC18). The project is focused on optimizing the production of the bioactive peptide FZC18 to better understand the mechanisms by which this peptide may modulate tumor cell growth and to develop Wnt targeted therapy. This project is also based on a large collection of human HCC tissues to identify other potential antitumoral agents.

Group 2 is successfully working on lung inflammation and fibrosis but obviously has no significant collaborative projects with the other groups within the team 4 or even with the other teams of the Unit, and its presence within the team stems mainly from a past history of local interactions.

Group 3 is very active in the development of new delivery systems to improve the metabolic radiotherapy approach for HCC treatment in terms of efficacy and safety. The number of related publications confirms the expertise of the group in the field and the collaborations with the different medical teams ensure the probable development of the main compounds (188Re derived vectors) into clinical research in the next future.

In conclusion, Team 4 is very active, is clearly well inserted into the local context (University of Rennes, Hospital Pontchaillou and Cancéropole Grand Ouest) and is well funded by grants from French National and local programs. A notable strength is the continuum between basic and clinical research.

— Weaknesses :

Regarding the project of Group 1, because of 1) many technical problems to be solved before these findings can be translated into an active drug; 2) the high number of new multi- targeted drugs provided by the pharmaceutical companies and 3) the absence of alternative compounds tested in the group, this project should be considered as a high risk project for the team besides its evident scientific interest.

While common aims between groups 1 and 3 rely on improving HCC diagnosis and therapy, the committee has found few common background or projects involving active collaborations between these groups, excepted for a long-term potential combination therapy between collagen 18 variants and metabolic radiotherapy.

In addition, group 1 and 3 do not have technical personnel despite the high number of projects.

— Recommendations :

Interactions between group 2 and the two others groups in terms of basic and/or clinical research in the field of liver cancer should be presented.

The "FZC18 project" is very risky when presented only in terms of drug development and therapeutic application in HCC. The group should present an additional project (other compounds, other applications...) in the field (EMC and HCC).

Recruitment of technical staff should improve the feasibility of the different projects.



Nom de l'équipe : Remodelage du microenvironnement . mécanismes et thérapies ciblées dans le cancer du foie

Note de l'équipe	Qualité scientifique et production	Rayonnement et attractivité, intégration dans l'environnement	Stratégie, gouvernance et vie du laboratoire	Appréciation du projet
B	B	B	A	B

5 • Appreciation of resources and of the life of the research unit

— Management :

The management project appears adequate. Specifically:

The Unit Manager will act as a chief executive officer of the Board of Directors, constituted by the 4 team leaders. The unit manager will be assisted by the administrative staff. The Board of Directors will meet on a weekly basis.

A Laboratory Committee will gather the team leaders and the elected-representatives of the staff. The Lab Committee will meet every 6 months.

A Scientific Committee will follow the projects, give advices on the overall strategy of the unit and review applicants from outside for joining the unit. Two internationally recognized outside experts in the field will be invited to join this committee. The scientific Committee will meet once a year, or at the request of the Unit Manager.

A General Meeting of the unit staff members will take place every year.

In addition, the management plan addresses adequately all regulatory affairs such as ethics and quality assurance for instance.

— Human resources :

There is an overall deficit in technical personnel.

— Communication :

Internal communication appears pretty good with notably whole lab meetings every week, gathering the 4 teams.

External communication is not as yet a strong point, remembering that this is a new lab where people come from several distinct places. There are specific plans to encourage dissemination of knowledge.



6 • Recommendations and advice

— Strong points :

All 4 teams are led by experienced scientists in the field. A strong point showing the attractiveness of the lab is that they recently succeeded in attracting a new well-recognized team leader from another city.

Most team leaders benefit from an indisputable reputation in their field, at the national and international level. There are a number of interactions within teams in terms of scientific projects, and of development and use of common technological platforms and biological tools.

There are strong, efficient, historical and ongoing connections between the lab and several clinical departments. This is especially clear in the field of iron-related research although, with the exception of Team 3 (the newest), all Teams show clinically-oriented projects.

The plans to handle the budget clearly indicate that the 4 teams form a community, since it is expected that all money from INSERM and University will be dedicated to a common use (including financing of transversal emerging projects). The teams will function with their grant money, of which 5% will also be dedicated to common use.

The management and animation policies appear adequate and should also guarantee interactions between the teams.

— Weaknesses :

All teams present too many projects that are not always conducted in depth.

The overall publication level is not optimal.

The research unit is spread between several locations.

— Recommendations :

Address the weak points

Note de l'unité	Qualité scientifique et production	Rayonnement et attractivité, intégration dans l'environnement	Stratégie, gouvernance et vie du laboratoire	Appréciation du projet
B	B	B	A	B

Bruno Clément
Foie, Métabolismes et Cancer

Faculté de Médecine
CHU Pontchaillou
35043 RENNES
☎02.23.23.47.99
bruno.clement@inserm.fr

Monsieur Pierre Glorieux
Directeur de la section des unités de recherche
AERES

Monsieur le Directeur,

Je vous remercie de m'avoir transmis le rapport du comité de visite, suite à notre demande de reconnaissance d'une unité pluri-équipes mixte Inserm-Université de Rennes I, intitulée « Foie, Métabolismes et Cancer ».

Le comité a examiné en profondeur chacun des quatre projets d'équipe et le rapport propose des orientations constructives qui nous permettront de renforcer le projet global. Voici les réponses des responsables d'équipes aux remarques et recommandations du comité de visite :

Equipe n°1 (O. Loréal)

- *Réduction des sujets abordés et définition des verrous* : Les trois groupes feront conjointement porter leurs efforts sur les 3 objectifs principaux que sont la caractérisation :
 - *des mécanismes contrôlant le métabolisme du fer, en particulier ceux liés à l'expression hépatique de l'hepcidine*: identification de nouvelles séquences régulatrices dans le promoteur de l'hepcidine (année 1) ; validation de facteurs transcriptionnels et voies de transduction candidats sur des modèles cellulaires, puis animaux (année 3) ; identification de mutations chez l'homme (avec le Centre de référence des surcharges en fer rares) (années 1 à 4)
 - *des mécanismes contrôlant l'expression des surcharges en fer chez les patients* : obtention et extension des données cliniques et des échantillons biologiques à partir de la DNAtèque et de la base de données existantes (année 1) ; évaluation de l'impact des gènes candidats dans des modèles animaux, en complément des approches cellulaires (année 2) ; validation du lien entre les gènes candidats, suspectés du fait de travaux antérieurs, et la surcharge hépatique en fer dans des modèles animaux génétiquement modifiés (année 3).
 - *de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques* : développement de méthodes cellulaires de criblage de molécules thérapeutiques candidates à partir des modèles disponibles ; développement de méthodes analytiques : dosage de l'hepcidine (année 1), IRM (année 2), ICP/MS-isotopes stables (année 3), pour évaluer: i) l'impact de mutations/polymorphismes ; ii) l'efficacité de molécules sur l'hepcidine et le métabolisme du fer, chez l'animal et chez l'homme, en lien avec le CIC.
- *Modèles animaux* : des modèles animaux sont déjà utilisés au sein de l'équipe : i) souris surchargées expérimentalement en fer ; ii) souris génétiquement modifiées : HFE^{-/-}, BMP6^{-/-} (collaboration avec l'équipe de M.P. Roth, Toulouse). D'autres modèles animaux seront recherchés dans le cadre de la validation des gènes d'intérêts, en cours de caractérisation. Si un gène d'intérêt majeur pour lequel il n'existe pas d'animaux génétiquement modifié était identifié, nous développerions le modèle correspondant. L'utilisation d'un modèle porcin présentant une obésité associée à des anomalies du métabolisme glucido-lipidique, et pouvant ou non être surchargé en fer, est également envisagée en collaboration avec l'INRA (St Gilles).

- *Recrutement d'un biologiste moléculaire plein temps* : nous prévoyons que : i) M.B. Troadec, actuellement en séjour post-doctoral dans le laboratoire du Pr Jerry Kaplan (Salt-Lake City, USA) soit candidate à un poste de chargé de recherche ; ii) M.L. Island, qui occupe dans le laboratoire une fonction d'ingénieur de Recherches financée par l'Union Européenne, soit intégrée dans le cadre du développement de la recherche translationnelle ; iii) E. Bardou-Jacquet, Chef de Clinique-Assistant, actuellement en master 2 effectue une thèse de sciences sur les pathologies humaines de surcharge en fer et poursuive la voie de la recherche bioclinique.
- *Méthodes utilisées pour caractériser l'impact des chélateurs du fer et questions posées* :
 - Méthodes : le groupe utilise des méthodes faisant appel à la chimie, et des méthodes biologiques qui permettent une approche intégrée de l'effet des chélateurs, la phase de criblage chimique permettant d'orienter l'approche biologique. Sur la base de cette approche, le groupe est sollicité pour la caractérisation de chélateurs, dans un double cadre académique et industriel. En outre, des approches transcriptomiques (microarrays) sont d'ores et déjà engagées *in vitro*, et *in vivo* chez la souris surchargée en fer.
 - Questions posées : de nouveaux chélateurs sont disponibles et utilisés pour le traitement des surcharges en fer. Cependant il est important de disposer de nouveaux chélateurs du fer ayant pour objectif non seulement de traiter les surcharges, mais aussi de limiter la prolifération des cellules tumorales qui est dépendante du fer. C'est pourquoi, les membres de l'équipe développent des chélateurs du fer très actifs, ciblés sur les cellules en prolifération.
- *Nécessité de personnes supplémentaires pour traiter le sujet portant sur les lésions ostéo-articulaires liées au fer* : Cette question scientifique est nouvelle dans le projet d'équipe. La partie bioclinique est actuellement supportée par un PHRC. Pour l'approche fondamentale, une thèse vient de débiter sur ce sujet, à l'interface des thèmes 1 et 3 (Mathilde Doyard 2009-2011).
- *Faible "production" d'étudiants en thèse* : Actuellement, trois doctorants sont dans l'équipe. Un sujet de thèse portant sur le développement de nouveaux chélateurs du fer a été sélectionné pour être financé par le CNRS (co-tutelle Nantes-Rennes) et deux sujets de thèse ont été déposés pour le concours 2009 de l'Ecole Doctorale VAS.

Equipe n°2 (F. Morel)

- *Projet ischémie-reperfusion* : Nous avons récemment défini deux situations biologiques permettant l'analyse, au plan fondamental, des effets de l'ischémie/reperfusion sur le foie normal et tumoral. Une première étude *in vivo* chez le rat a démontré que le stress de reperfusion généré lors d'un clampage intermittent et sélectif des lobes à réséquer entraîne une accélération de la régénération hépatique notamment *via* l'activation de la voie de signalisation JNK (Duval et al, soumis). Ce résultat suggère que ce type de stress pourrait également avoir des conséquences sur la prolifération des cellules tumorales. Une étude transcriptomique visant à préciser quelles sont les différentes voies de signalisation impliquées est en cours. Une seconde étude *in vitro* nous a permis de préciser des effets de l'hypoxie/réoxygénation sur des cellules tumorales hépatiques. Nous avons utilisé la lignée d'hépatome humain HepaRG à un stade différencié et démontré une adaptation métabolique réversible de ces cellules à un environnement hypoxique et appauvri en nutriments. La stabilisation du facteur de transcription HIF-1 α induit également une répression de l'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques. Cette adaptation et l'altération de l'expression des systèmes de détoxification pourraient en partie expliquer la résistance des cellules tumorales aux chimiothérapies dans un environnement à faible teneur en oxygène (Legendre et al, soumis). Ainsi, l'utilisation des cellules HepaRG différenciées semble pertinente pour étudier les effets de l'hypoxie/réoxygénation sur la croissance tumorale, les mécanismes de résistance à l'apoptose et pour tester des molécules anticancéreuses. Nous étudierons également

les effets de l'hypoxie/réoxygénation sur la prolifération, différenciation et adaptation de ces cellules tumorales au stade de progéniteur hépatique bipotent. En fonction des résultats obtenus, nous envisagerons ou non de développer un modèle *in vivo* de carcinome hépatocellulaire orthotopique chez le rat.

L'identification de nouvelles molécules protectrices vis-à-vis du stress oxydant lors de la préservation de greffons hépatiques s'inscrit dans le cadre général de la mise au point d'une machine à reperfusion hypothermique. Pour mener à bien ce projet, il nous paraît important d'établir les effets d'une molécule de référence et notre choix a porté dans un premier temps sur le Mangafodipir. Ce dernier est utilisé comme agent de contraste pour les IRM hépatiques et ses propriétés antioxydantes sont connues. Ismael Ben Mosbah, chercheur post-doctorant, vient d'être recruté pour ce projet, ce qui permettra en outre de renforcer le lien entre les cliniciens et les scientifiques. I. Ben Mosbah a réalisé sa thèse et un premier post-doctorat à Barcelone dans le laboratoire du Pr. C. Peralta sur la mise au point de différentes conditions de préservation de foie. Son objectif sera d'analyser aux niveaux moléculaire et cellulaire les effets du stress d'ischémie/ reperfusion et d'étudier les propriétés protectrices du Mangafodipir.

- *Nombre de publications de haut niveau* : Pour atteindre l'objectif donné par le comité, nous comptons beaucoup sur l'originalité des études envisagées, notamment celles concernant les glutathion transférases et le contrôle de la prolifération des hépatocytes. Ainsi, plusieurs publications vont faire suite aux déclarations d'invention qui viennent d'être acceptées par *Inserm-Transfert* pour le dépôt de deux brevets intitulés :
 - 1) "De nouvelles lignées d'hépatome humain dérivées de la lignée HepaRG, exprimant de façon stable un transgène de type hspGFP, capables de développer un programme de sénescence hépatocytaire ou de réverser ce programme par une expression stable d'un gène inhibiteur de sénescence tel que la télomérase. Applications comme biosenseur du stress oxydatif cellulaire en toxicologie et comme outils d'analyses des mécanismes de sénescence".
 - 2) "Le gène humain TBC1D5, ses caractéristiques fonctionnelles, dysfonctionnements du gène et perturbations cellulaires ; applications cliniques et thérapeutiques attendues."

De plus, trois publications ont été acceptées depuis le début de l'année 2009 (*Eur J Immunol*, *World J Gastroenterol.*, *J. Gen. Virol*, *Eur. J Cancer*) et quatre articles sont soumis.

Equipe n°3 (B. Fromenty et M.A. Robin)

Nous sommes reconnaissants au comité d'avoir constaté que notre nouvelle équipe présente plusieurs forces telles que la synergie entre nos différentes approches expérimentales *in vitro* et *in vivo*, et une expertise reconnue dans le domaine du métabolisme des xénobiotiques et de l'hépatotoxicité médicamenteuse. Quelques critiques et recommandations ont cependant été émises.

- *Taille de l'équipe*: Le comité note que notre équipe est de taille relativement petite. Nous sommes en effet arrivés à Rennes depuis seulement septembre 2008, pour constituer cette nouvelle équipe. Sa reconnaissance par l'Inserm devrait lui permettre d'attirer vers elle de nouveaux chercheurs et des cliniciens. A noter que notre équipe comprend André Guillouzo qui encadre actuellement un doctorant et deux post-doctorants, et Alain Fautrel, IE Inserm titulaire d'un doctorat d'université en 2005, qui encadre des étudiants en Master. L'équipe a donc une capacité d'encadrement assez conséquente.
- *Publications* : Comme souligné dans le rapport, le facteur d'impact des journaux dans lesquels sont publiés nos travaux les plus récents est en général inférieur à ceux des années antérieures. Nous constatons qu'il est de plus en plus difficile de publier des travaux de pharmacologie/toxicologie dans des journaux spécialisés en hépatologie, ou dans des journaux généralistes qui peuvent présenter des facteurs d'impact plus élevés. Cependant, nos articles récents bénéficient d'un bon indice de citation : depuis 2003, 13 articles ont été cités au moins 10 fois et 9 d'entre eux plus de 30 fois.

- *Recrutement de jeunes chercheurs* : Karima Begriche, encadrée pendant sa thèse par B. Fromenty, a débuté un séjour post-doctoral en mai 2008 dans le laboratoire du Dr Andrew Butler (Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, USA). Nous pensons qu'à la fin de ce séjour (2010-11), Karima Begriche devrait avoir un dossier compétitif afin de se présenter à un concours de chargé de recherche. En outre, nous sommes désireux d'attirer des jeunes chercheurs titulaires pour renforcer notre équipe.
- *Contacts avec les cliniciens* : des contacts avec des médecins du CHU ont été pris dès notre arrivée à Rennes. Par exemple, nous avons débuté une collaboration avec Yves Deugnier et Fabrice Lainé (groupe 1 du projet d'unité et Service des Maladies du Foie) concernant une étude sur l'expression mitochondriale du cytochrome P450 2E1 chez les malades. Une collaboration avec Bruno Turlin (groupe 1 du projet d'unité et Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques) a aussi été initiée pour des analyses histologiques de foies de souris dans différents modèles. Bruno Turlin est ainsi co-auteur d'un article que nous venons de soumettre au *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Enfin, nous allons mettre en œuvre un projet avec Emmanuel Oger, pharmaco-épidémiologiste au Centre Régional de Pharmacovigilance du CHU, qui vise à déterminer si la fréquence de survenue des hépatites médicamenteuses est plus élevée chez des individus obèses (et/ou diabétiques) comparée aux sujets non obèses, en s'appuyant sur bases de données du réseau français de pharmacovigilance.
- *Lignée HepaRG* : nous sommes conscients que la lignée HepaRG ne peut pas être utilisée comme unique modèle d'étude. Nous avons d'ailleurs indiqué dans le document écrit et dans l'exposé oral, que d'une part d'autres types de cellules hépatiques, en particulier les hépatocytes humains en culture primaire et les cellules HepG2, et d'autre part des modèles murins (souris ob/ob et normales) seront utilisés pour compléter et enrichir nos approches expérimentales. Concernant les cellules HepaRG, nous avons précisé au cours de notre exposé qu'elles ont l'avantage par rapport aux autres cellules disponibles, d'exprimer de façon significative et stable, pendant au moins 1 mois, de nombreuses enzymes de détoxification, ainsi que les récepteurs nucléaires modulant leur expression (Aninat *et al.*, *Drug Metab Dispos* 2006 ; Jossé *et al.*, *Drug Metab Dispos* 2008). De plus, 95% des gènes exprimés dans les hépatocytes humains le sont également dans les cellules HepaRG (Lambert *et al.*, en préparation). Enfin, des résultats préliminaires ont également été présentés concernant l'induction d'une stéatose d'origine médicamenteuse (tétracycline), ou "nutritionnelle" (acide oléique), qui peut être maintenue plusieurs semaines dans ces cellules. Ainsi, bien que la lignée HepaRG présente incontestablement des spécificités, son utilisation permet des investigations *in vitro* qui ne sont pas envisageables avec d'autres types de cellules hépatiques.
- *Congrès* : nous avons pris bonne note que les leaders du groupes devraient participer à plus de congrès internationaux.

Equipe n°4 (Bruno Clément)

L'équipe réunit trois groupes, issus de l'ex U-620, de l'ex l'UPRES 3890 et des équipes cliniques d'oncologie et de médecine nucléaire du Centre de lutte contre le cancer. Les synergies nouvelles sont illustrées par les projets transversaux, qui répondent à la principale critique du comité de visite sur le manque de visibilité des interactions entre les trois groupes :

- Etudes mécanistiques et translationnelles sur la combinaison entre radiothérapie et modulation de l'activation de la voie Wnt- β caténine par les modules bioactifs de la matrice extracellulaire (groupes 1 et 3) : cette étude, réalisée par J. Leseur interne en médecine nucléaire dans le cadre de son M2, a montré un effet additif d'une irradiation et de FZC18, inhibiteur de la voie Wnt, sur l'arrêt de la croissance tumorale en phase G1 du cycle cellulaire, l'apoptose, la mort cellulaire en mitose et la croissance tumorale de xéno greffes dans la souris nude (manuscrit en préparation). Cette étude sera étendue à des combinaisons du module FZC18 avec des vecteurs radiomarqués permettant une irradiation interne de la tumeur (^{131}I ou ^{188}Re -SSS lipiodol).
- Vectorisation et ciblage du carcinome hépatocellulaire via les modules de la matrice

extracellulaire dont l'expression est enrichies dans le foie (groupes 1 et 3) : ce projet s'intéresse d'une part à l'étude de la biodistribution de FZC18 radiomarqué et à l'évaluation de son ciblage tumoral après injection (projet ANR 2009, Emergence et Maturation) ; et d'autre part à l'utilisation de certains modules collagéniques dont l'expression semble spécifique dans les sinusoides hépatiques (résultats préliminaires).

- L'étude de l'inflammasome dans les stades précoces de la fibrogénèse et du carcinome hépatocellulaire (groupes 1 et 2) : cette étude s'appuie sur des résultats publiés par le groupe 2 sur le rôle de NALP3, ASC et la caspase-1 dans la production d'IL-1 β dans la fibrogénèse pulmonaire (JCI 2007, Am.J.Respir.Crit.CareMed 2009). Elle vise à analyser cette cascade dans la fibrogénèse hépatique associée à la survenue du CHC dans des souris KO pour NALP3, ASC, caspase1 et IL1R (collaboration V. Quesniaux, CNRS UMR6218-Univ. Orléans) développant une fibrose hépatique (modèle CCl₄) ou un CHC (souris transgéniques c-myc et H-ras, en collaboration avec C. Perret, Institut Cochin). Cette étude sera validée dans une cohorte de patients à différents stades de fibrose, associée à une inflammation (D. Guyader).
- L'étude de la validation de miR122 comme biomarqueur de la progression tumorale et de la réponse aux biothérapies du CHC (groupes 1 et 3). Ce projet s'appuie sur l'arrivée dans notre équipe de Cédric Coulouarn, de retour de séjour post-doctoral au NCI (S. Thorgeirsson), dont le projet porte sur l'étude du rôle de miR122 dans l'acquisition du phénotype invasif dans les CHC humains.

De plus, le rapport souligne :

- Le caractère risqué du projet FZC18. Ce projet ne vise pas uniquement le développement d'une application thérapeutique (étude pré-clinique soutenue par l'ANR). En effet, les études actuellement menées sur FZC18 rentrent dans le cadre plus large de l'identification et le rôle des (poly)peptides bioactifs présents dans la matrice extracellulaire comme modulateurs des voies de signalisation intracellulaire, au cours du remodelage du microenvironnement tumoral (projet soutenu par l'INCa). Nous avons ainsi montré que SFRP1 module la voie Wnt- β -caténine et qu'il est un puissant inhibiteur de la croissance tumorale (Lavergne et al. en préparation). Nous rechercherons de nouveaux modules bioactifs péricellulaires par une approche associant analyse in silico et préparation d'anticorps monoclonaux par immunisation soustractive.
- La nécessité de recruter du personnel technique. Ce point, résolu pour le groupe 3 avec l'arrivée de S. Abgrall, mise à disposition à 50% par le CRLCC, a été transmis à l'université pour le groupe 1. De plus, une demande spécifique sera transmise à l'Inserm dans le cadre du redéploiement du personnel ITA sur le site de Rennes.

Outre la mise en œuvre des projets d'équipe évalués dans ce rapport et auxquels nous avons apportés les précisions ci-dessus, l'une de nos priorités est d'engager des projets transversaux aux quatre équipes qui contribueront à consolider les interactions existantes entre ces équipes, et entre le projet global de l'unité et la recherche clinique. En effet, nous anticipons que les progrès en Hépatologie, ainsi que la prise en charge thérapeutique des malades, s'appuieront sur une approche intégrée, de la recherche cognitive à la clinique, en y incluant la prévention, le diagnostic et les traitements innovants. La reconnaissance d'un « centre expert » en hépatologie, réunissant l'ensemble des compétences dans le domaine, adossé à un ensemble cohérent de plates-formes technologiques, d'un centre de ressources biologiques et d'un centre d'investigation clinique, représente un enjeu majeur pour promouvoir la valorisation et le transfert des découvertes vers les patients.

Veillez agréer, Monsieur le Directeur, l'expression de mes salutations distinguées.



Bruno Clément