



**HAL**  
open science

## Etablissement d'un model persistant à la chimiothérapie dans le cancer du sein triple négatif

Anaïs Horochowska, Marie Denoulet, Mathilde Brulé, Flavie Woesteland,  
François Anquez, Xuefen Le Bourhis, Chann Lagadec

### ► To cite this version:

Anaïs Horochowska, Marie Denoulet, Mathilde Brulé, Flavie Woesteland, François Anquez, et al..  
Etablissement d'un model persistant à la chimiothérapie dans le cancer du sein triple négatif. Thematic  
day dedicated to breast cancer of the north-west canceropole, Oct 2023, LILLE, France. hal-04547921

**HAL Id: hal-04547921**

**<https://hal.science/hal-04547921>**

Submitted on 16 Apr 2024

**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.

# Établissement d'un modèle persistant à la chimiothérapie dans le cancer du sein triple négatif.

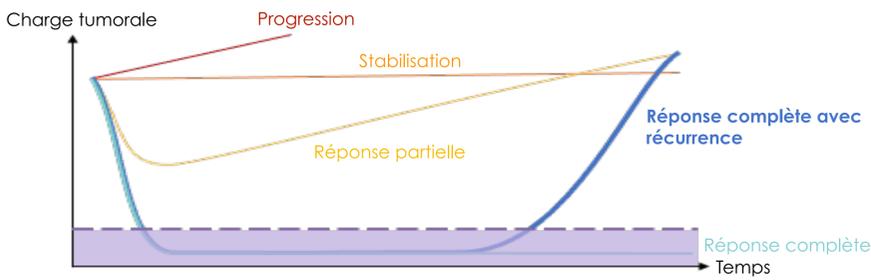


Anaïs Horochowska<sup>1</sup>, Marie Denoulet<sup>1</sup>, Mathilde Brulé<sup>1</sup>, Flavie Woesteland<sup>1</sup>, François Anquez<sup>2</sup>, Xuefen Le Bourhis<sup>1</sup>, Chann Lagadec<sup>1</sup>.

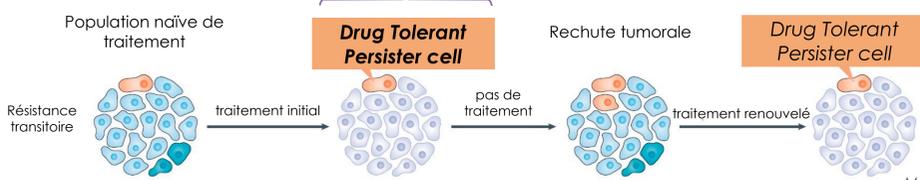
<sup>1</sup> Univ Lille, CNRS, CHU Lille, Centre Oscar Lambret, UMR9020 – UMR1277 – Canther – Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France  
<sup>2</sup> Univ. Lille, CNRS, UMR 8523 - PhLAM - Physique des Lasers Atomes et Molécules, F-59000 Lille, France

## Introduction

Profils de réponse aux chimiothérapies dans le cancer du sein triple négatif.



Maladie Minimale Résiduelle



Marine et al. 2020, Cancer

## Drug Tolerant Persistor

- Sous-population rare
- Persistant aux chimiothérapies
- Cycle lent / dormance
- Origine non mutationnelle
- Phénotype réversible

Cellules Souches Cancéreuses

## Objectifs

- 1 Besoin d'établir un modèle
- 2 Etude de l'état souche des DTP

## Etablissement d'un modèle de DTP

### Protocole de traitement

J0 : Ensemencement MDA-MB-231  
J1 : Traitement à 0 ; 1 ; 2,5 ; 5  $\mu$ M de Gemcitabine

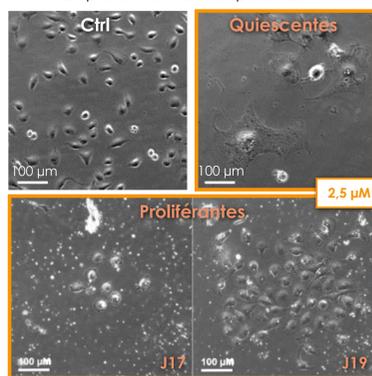


### Suivi de la population cellulaire

#### Suivi de la confluence

1. Capture d'images tous les 2 jours
2. Segmentation cellulaire ilastik
3. Mesure de la confluence cellulaire

Captures au microscope en 20X



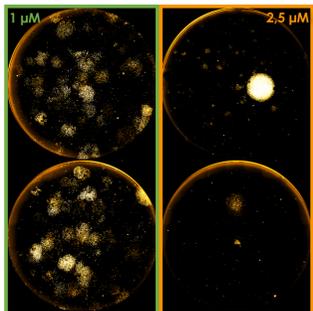
Reprise de la prolifération 7 jours après la levée d'une chimiothérapie de 6 jours à 2,5  $\mu$ M de Gemcitabine.

### Suivi de la survie

Lignée cellulaire stable

pCMV NLS-mScarlet  
Signal nucléaire

Captures à J20 avec Incucyte® SX5 de Sartorius



## Suivi de l'état souche des DTP

### Préparation de l'échantillon

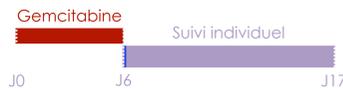
#### Lignée cellulaire stable

pALDH1a1 mNeptune - TK  
Rapporteur de l'état souche

Bidan et al., 2019, Proteomics

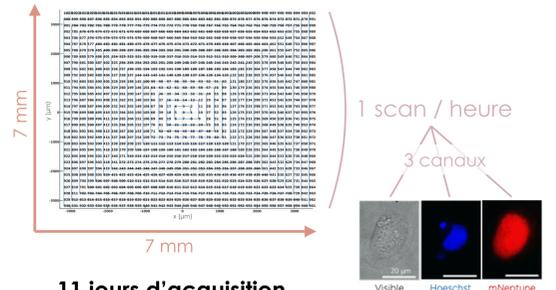
#### Préparation échantillon

Marquage au Hoechst vital à la levée de la chimiothérapie (J7)



### Acquisition

#### 1024 positions imagées au 60X = 49mm<sup>2</sup>



11 jours d'acquisition

### Analyses des images

#### Pre-processing

- Soustraction du fond
- Correction de la planéité de champ
- Débruitage

#### Segmentation

- Selon l'intensité de fluorescence du Hoechst
- Selon la taille et la rondeur de l'objet

#### Suivi et linéage

- Selon la distance et ressemblance entre les cellules
- Détection des mitoses et collisions

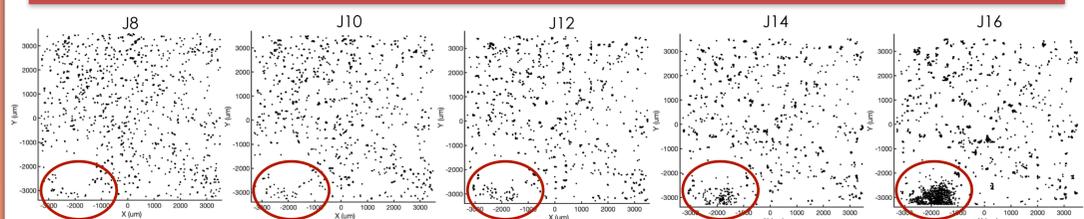
#### Fluorescence

- Intensité de fluorescence dans chaque canal

#### Pour chaque cellule

- Identité
- Taille
- Position
- Intensité de fluo de chaque canal

### Suivi en cellule unique de l'état de prolifération couplé à l'état souche, jusqu'à 11 jours



Sortie de dormance, reprise de prolifération des cellules persistantes ayant toléré la chimiothérapie.

En attente de l'extraction du suivi et linéage, et des intensités de fluorescence.

## Perspectives

Extraction des intensités de fluorescence, donc de l'état souche de chaque cellule individuellement

Identification de l'état de prolifération de chaque cellule individuellement

Inhiber l'état souche pour vérifier la causalité avec l'état DTP.

Séquençage des ARN en cellules uniques lors de la sortie de dormance pour identifier les mécanismes nécessaires au phénotype DTP.

Corrélation entre l'état souche des cellules et leur tolérance à la chimiothérapie, et leur capacité à reprendre la prolifération

### Contacts

anaïs.horochowska@univ-lille.fr  
chann.lagadec@inserm.fr  
francois.anquez@univ-lille.fr  
xuefen.le-bourhis@univ-lille.fr



Ce projet est financé par la Ligue contre le cancer et par le Cancéropôle nord-ouest.

