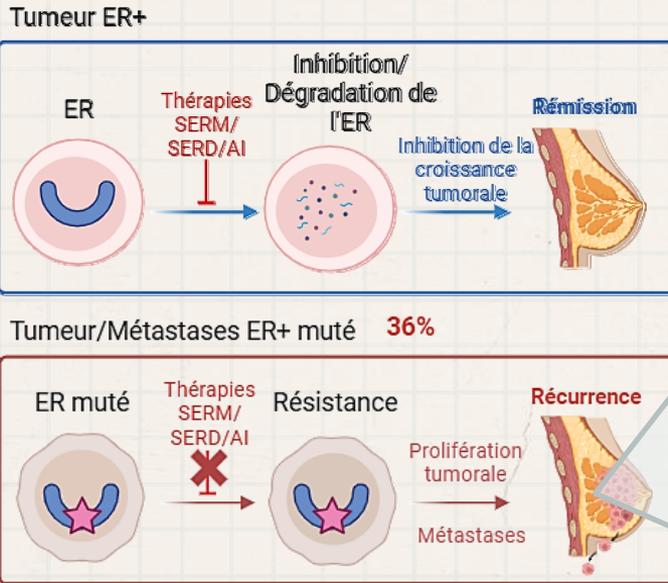


# Création d'un modèle cellulaire pour étudier la performance du <sup>18</sup>FES en TEP – Application aux cancers mammaires ER muté

JEAN Chloé, CHATEAU Alicia ,CARTIER Lucille, POTTEAUX Stéphane, GARBAR Christian, DUMOND Hélène, MERROUCHE Yacine, PINEL Sophie , ETIQUE Nicolas, PPATHANASSIOU Dimitri, DEVY Jérôme



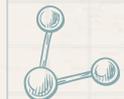
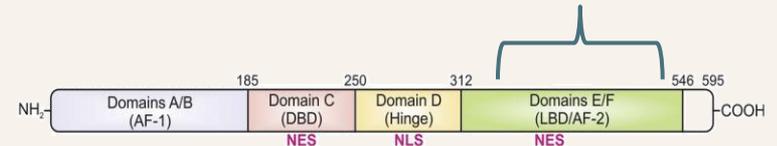
# Le cancer du sein hormonodépendant



- Conformation constitutivement active → **activité indépendante du ligand** (D538, Y537, L536) (Takehiro Yanagawa et al. 2017)
- **Hypersensibilité à l'estradiol** (E380) → nécessite 2 à 3x moins d'estradiol (Takashi Takeshita et al. 2017)

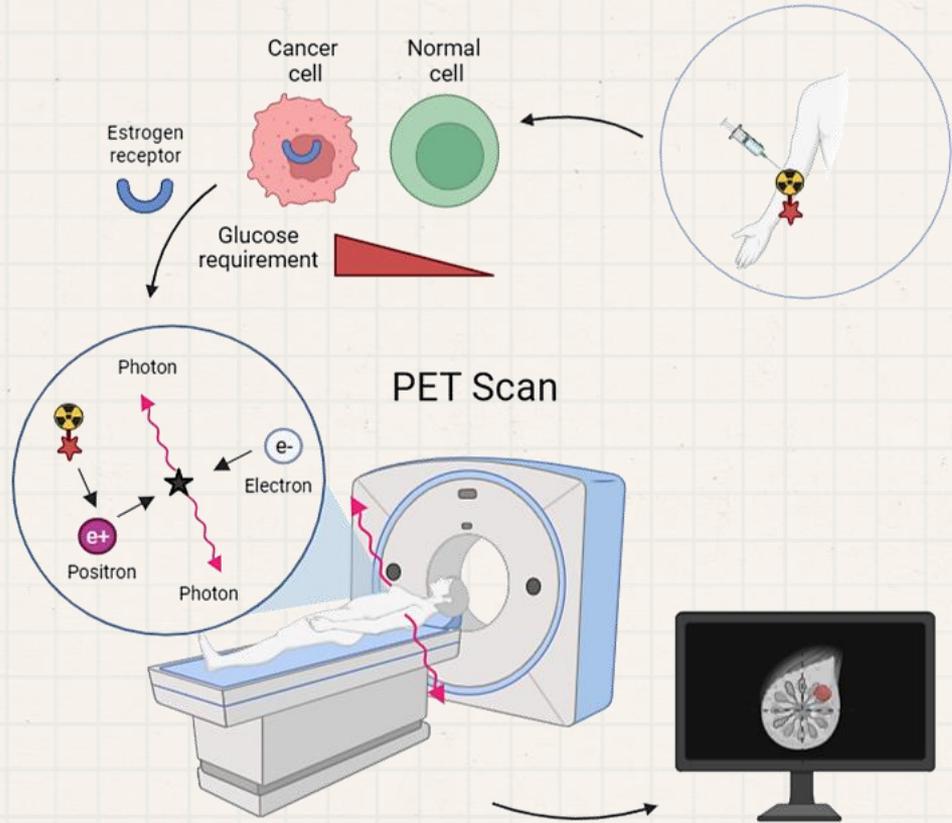
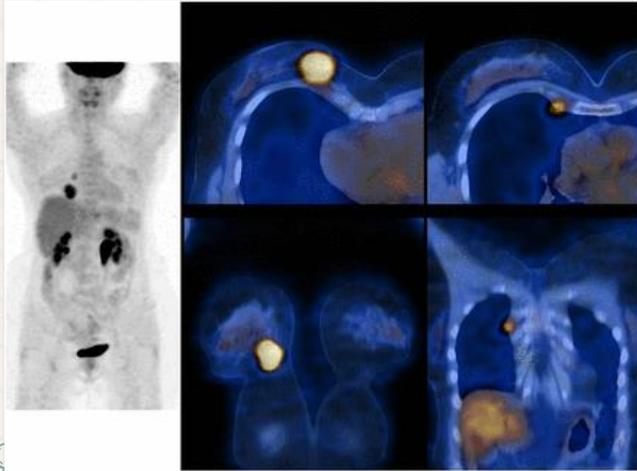
→ Résistance endocrine

Y537C/N/S, D538G, E380Q, L536H



# L'imagerie TEP

- $^{18}\text{F}$ Fluorodéoxyglucose : métabolisme cellulaire
- $^{18}\text{F}$ Fluoroestradiol : fixation à l'ER $\alpha$



# Objectifs du projet

Evaluer les bénéfices du  $^{18}\text{F}$ FES (diagnostic et suivi thérapeutique) en imagerie TEP

Le  $^{18}\text{F}$ FES permet-il de discriminer les différentes mutations de l'ER $\alpha$ ?

01

Mise au point et validation d'un modèle d'expression inducible pour l'étude des mutations du récepteur ER  $\alpha$  (système Tet-on)

02

Etude de la captation (SUV) du FES *in vivo* en fonction des variants du récepteur ER $\alpha$  (imagerie TEP)

03

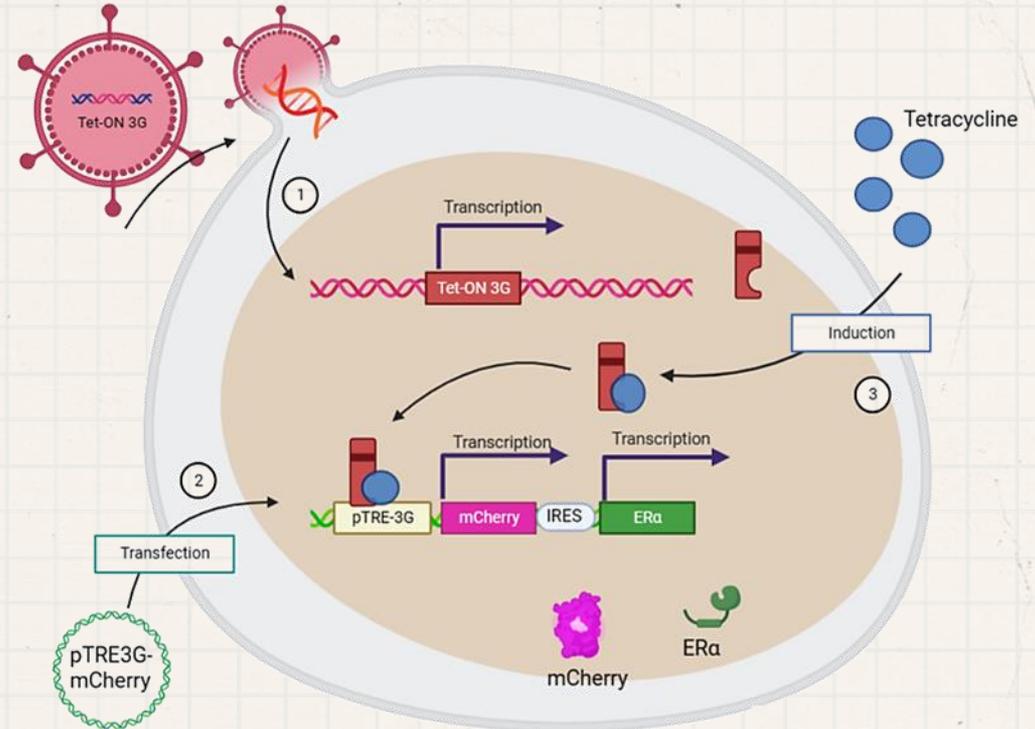
Détermination de l'affinité du FES froid pour les différents récepteurs ER $\alpha$  *in vitro*



# Le modèle utilisé

01

- Lignée cellulaire BT-20 (ER-)
- Système Tet-ON

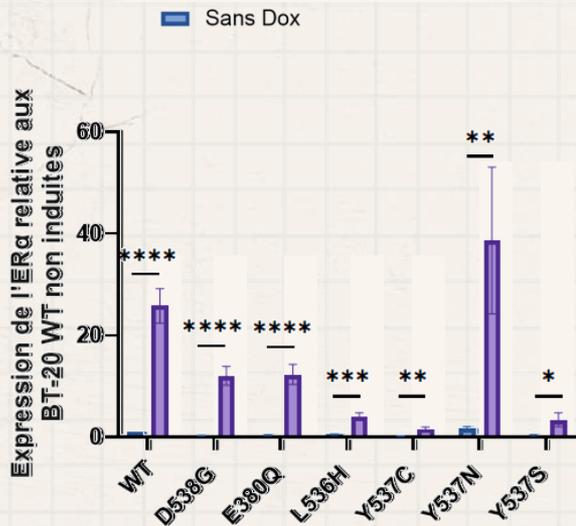


# Caractérisation du modèle

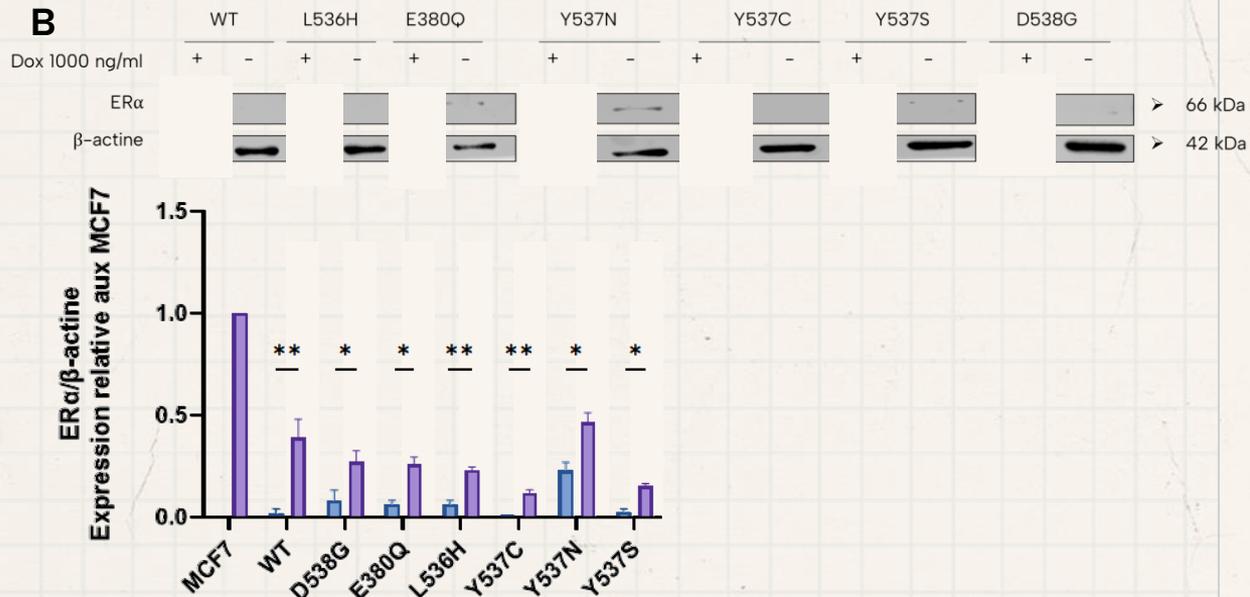
01

## Etude de l'expression inducible des variants de l'ER $\alpha$

A



B



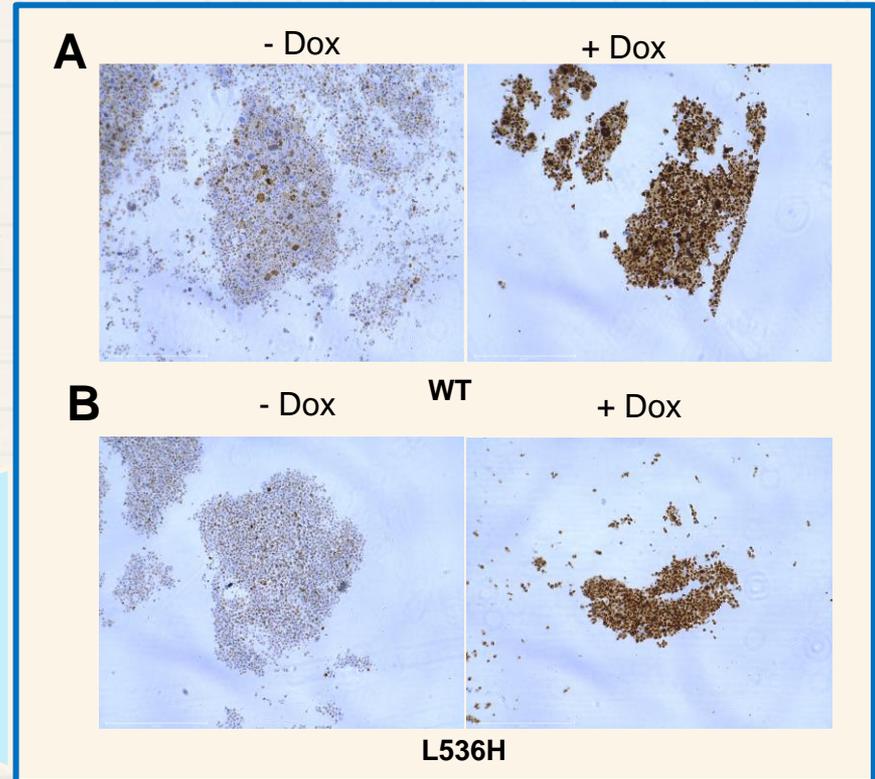
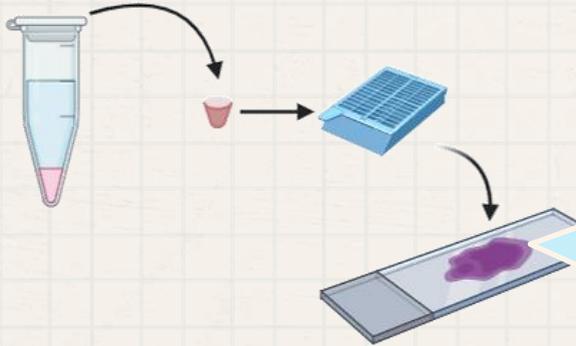
**Figure 1: Etude du caractère inducible de l'expression des variants de l'ER $\alpha$  par RT-qPCR et Immunoempreinte.** Expression relative de l'ARNM ER $\alpha$  quantifiée en RT-qPCR (A) et immunoempreinte représentative de l'expression de la protéine ER $\alpha$  (B), dans les lignées cellulaires WT et mutées traitées à la doxycycline (1000 ng/ml) pendant 24h \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ , Test de Student, N=3

# Caractérisation du modèle

01

## Etude de l'expression inducible des variants de l'ER $\alpha$ par Immunohistochimie

25.10<sup>6</sup> cellules BT-20 stimulées ou non à 1000 ng/ml de doxycycline pendant 24h

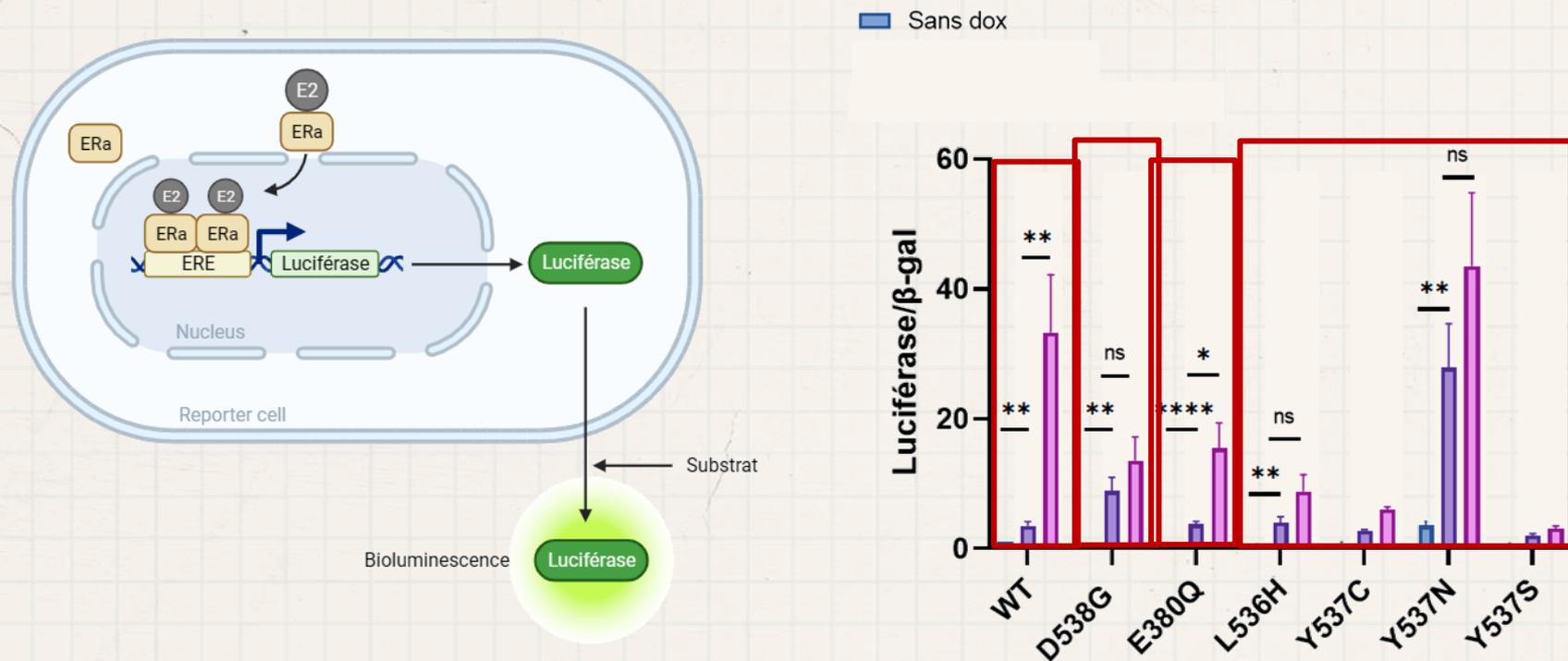


**Figure 2 : Etude du caractère inducible de l'expression d'un variant de l'ER $\alpha$  par immunohistochimie.** Un immunomarquage anti ER $\alpha$  suivi d'une contre coloration HES a été effectué. Les cellules exprimant l'ER $\alpha$  WT (A) et L536H (B) ont été observées et photographiées au microscope (Evos FI Auto 2).

# Caractérisation du modèle

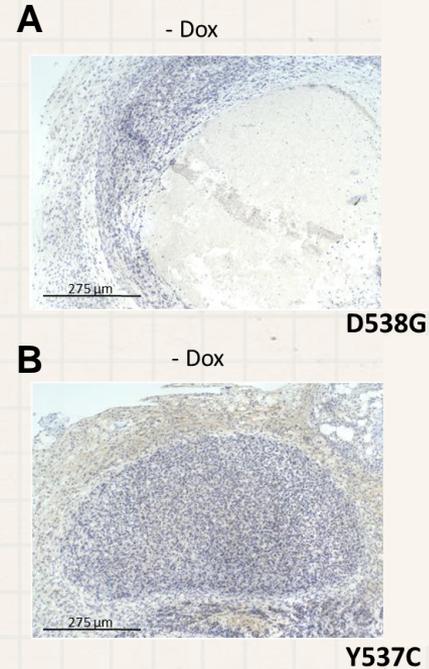
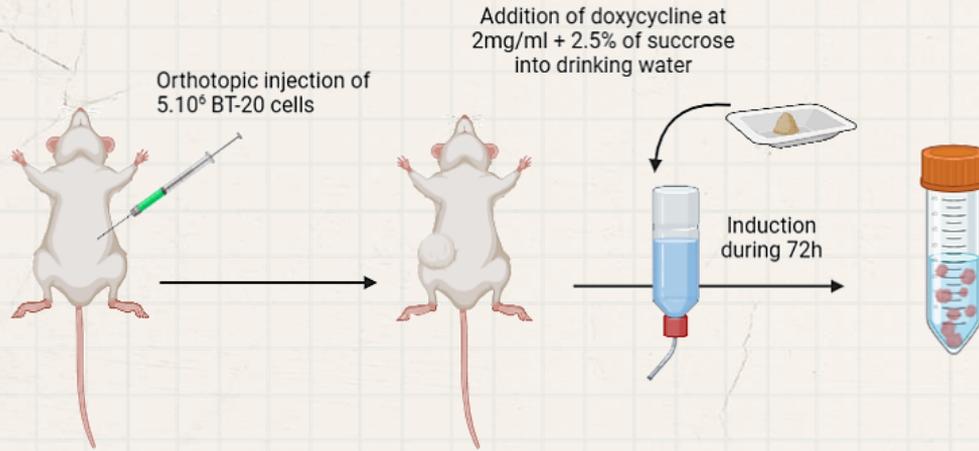
01

## Etude de la fonctionnalité des variants de l'ER $\alpha$ par système de gène rapporteur



**Figure 3: Etude de la fonctionnalité de la protéine ER $\alpha$  au sein des lignées de cancer mammaire générées.** Activité luciférase du gène rapporteur ERE normalisée à l'expression de la  $\beta$ -galactosidase dans les lignées cellulaires WT et mutées traitées à la doxycycline (1000 ng/ml) pendant 24h. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ , Test de Student, N=3

# Expression du modèle inductible dans un modèle orthotopique de xénogreffes 02



**Figure 4 : Etude du caractère inductible de l'expression des variants de l'ERα in vivo par immunohistochimie.** Un immunomarquage anti ERα suivi d'une contre coloration HES a été effectué. Les tumeurs exprimant l'ERα D538G (A) et Y537C (B) ont été observées et photographiées au microscope (Evos FI Auto 2).

# Conclusions



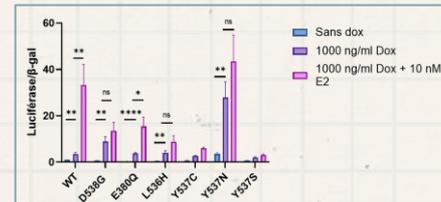
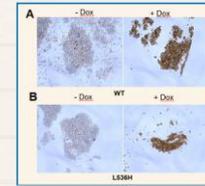
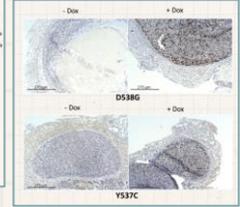
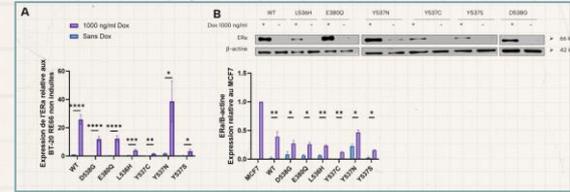
Le modèle cellulaire permet d'exprimer l'ER $\alpha$  WT ou muté de manière inducible *in vitro et in vivo*.



Le modèle cellulaire permet d'exprimer une protéine ER $\alpha$  fonctionnelle.

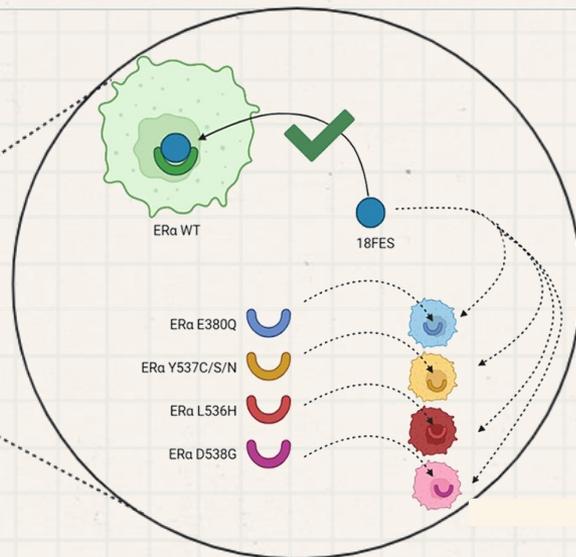
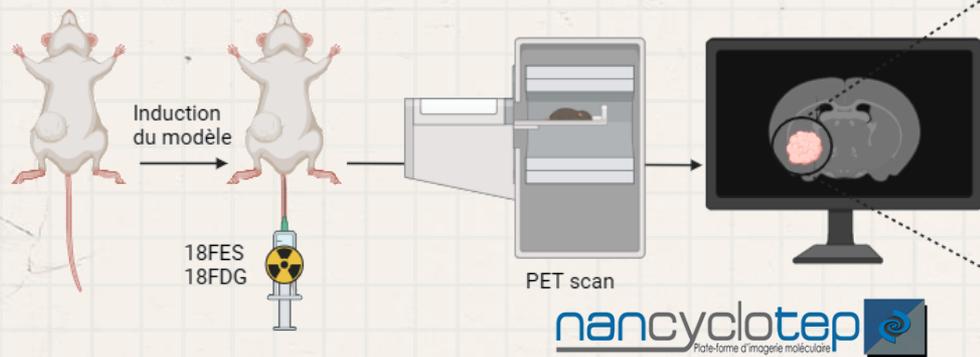


Les résultats sur les mutants L536, Y537, D538 confirment qu'ils sont constitutivement actifs.  
(Albert Grinshpun et al. 2023)



# Pendant que nous parlons...

03



## Et après ?

- Détermination des SUV (*Standard Uptake Value*) du  $^{18}\text{FES}$  *in vivo*.
- Détermination des constantes de dissociation ( $K_D$ ) de l'estradiol par thermophorèse micro-échelle.

**Evaluation de la performance du  $^{18}\text{FES}$  dans le diagnostic et le suivi thérapeutique des patientes**

# Remerciements



## UMR CNRS/URCA 7369 MEDyC

Nicolas ETIQUÉ      Laurent MARTINY  
Stéphane DEDIEU      Julien VION  
Jérôme DEVY



## Institut Godinot

Lucille CARTIER      Dimitri PAPATHANASSIOU  
Sylvain GATAR      Stéphane POTTEAUX  
Yacine MERROUCHE



## UMR 7039 CRAN

Alicia CHÂTEAU  
Hélène DUMOND  
Sophie PINEL



## Plateformes

Sandra AUDONNET  
Damien RIOULT



## NancyclotEP

Fathia MASKALI  
Emilie ROEDER





# Merci!

Avez-vous des questions?

[chloe.jean@univ-reims.fr](mailto:chloe.jean@univ-reims.fr)

