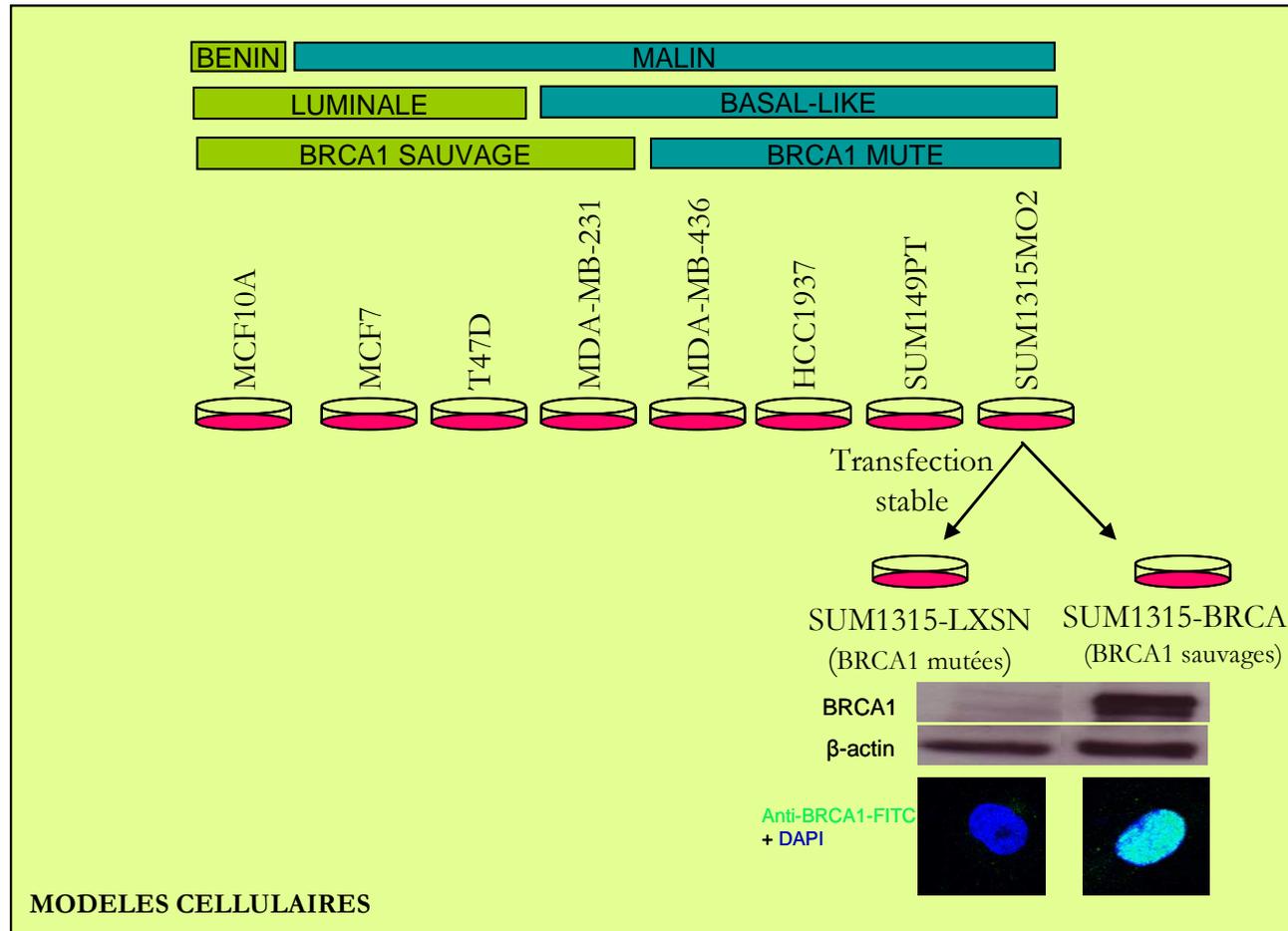


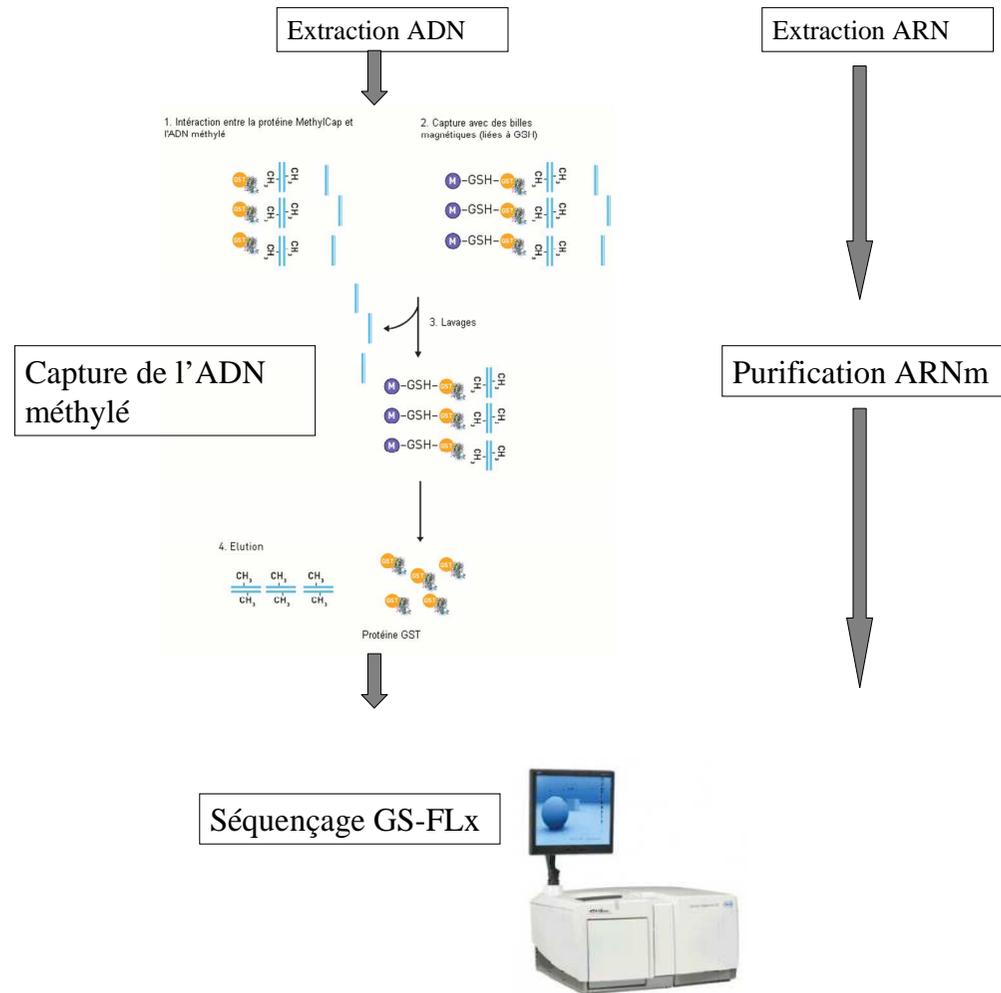
Caractérisation moléculaire de cellules tumorales mammaires Basal- like

**M. PRIVAT, C. TAMISIER, J. RUDEWICZ, G.
BARNABE, F. PONELLE**

LES LIGNEES CELLULAIRES UTILISEES



Le projet de caractérisation de ces lignées



Objectifs de cette étude

- Existe-t-il un profil de methylation particulier des lignées basales ? Des lignées B1 mutées ?
- Caractérisation complète des lignées : à utiliser par le + grand nombre
- Validation des méthodes RNAseq, Methyl Seq

Analyse des données

(J. Rudewicz, G. Barnabé, F. Ponelle)

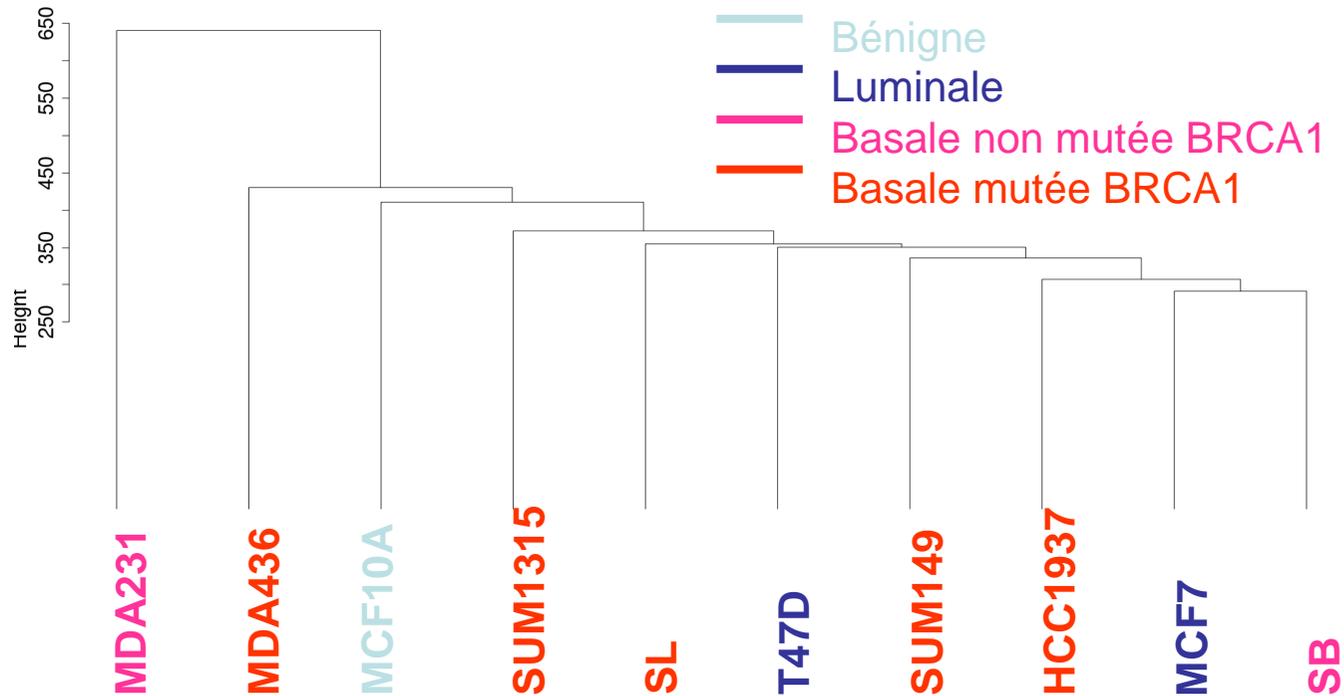
1. Analyse non supervisée : profil global
 - clustering
 - moyenne de methylation sur l'ensemble des gènes

2. Recherche de gènes les plus significativement régulés
 - en fonction du sous-type
 - en fonction de BRCA1

3. Influence de BRCA1 : étude spécifique SL/SB
 - > Transcriptome
 - > Methylome

Méthylome des lignées cellulaires

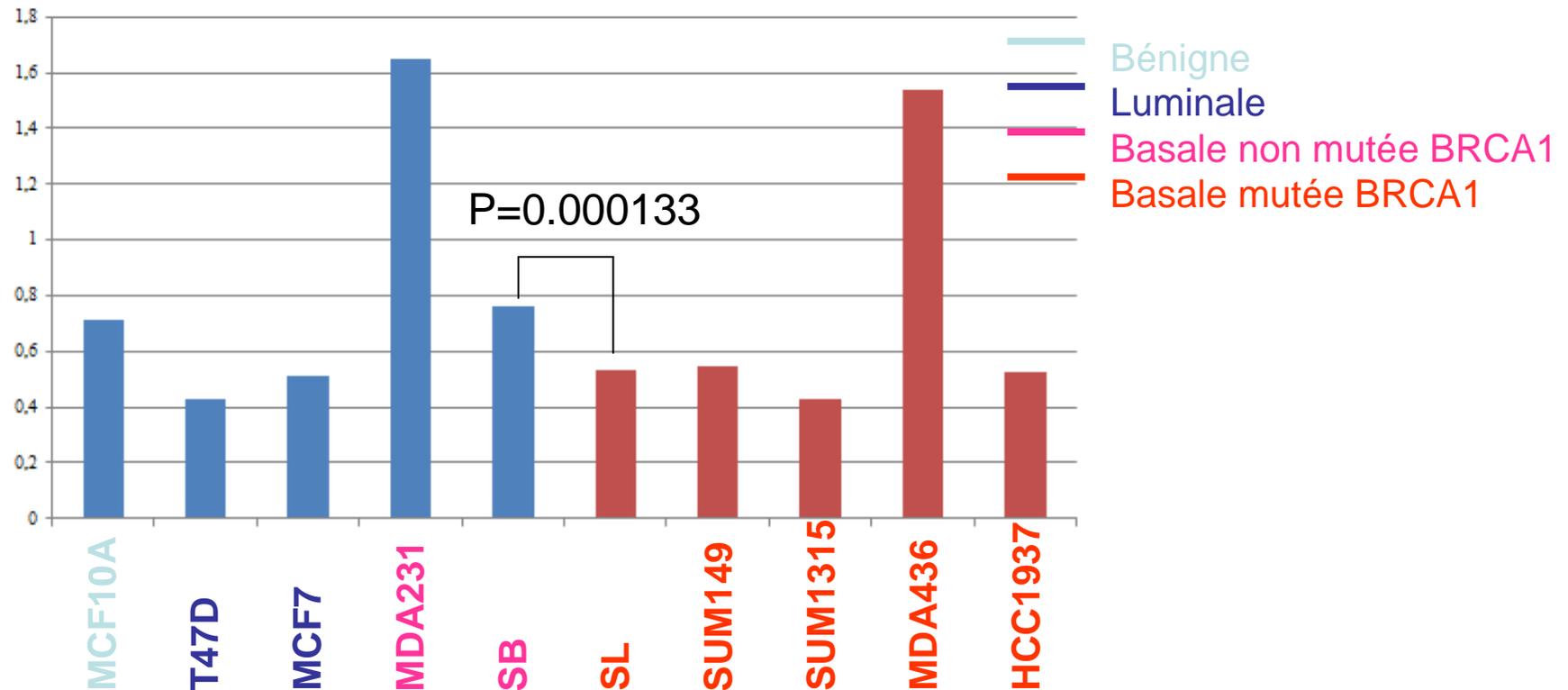
Classification ascendante hiérarchique :



➤ Les données de MethylSeq ne permettent pas de distinguer les lignées selon leur sous-type ou leur statut BRCA1

Méthylome des lignées cellulaires

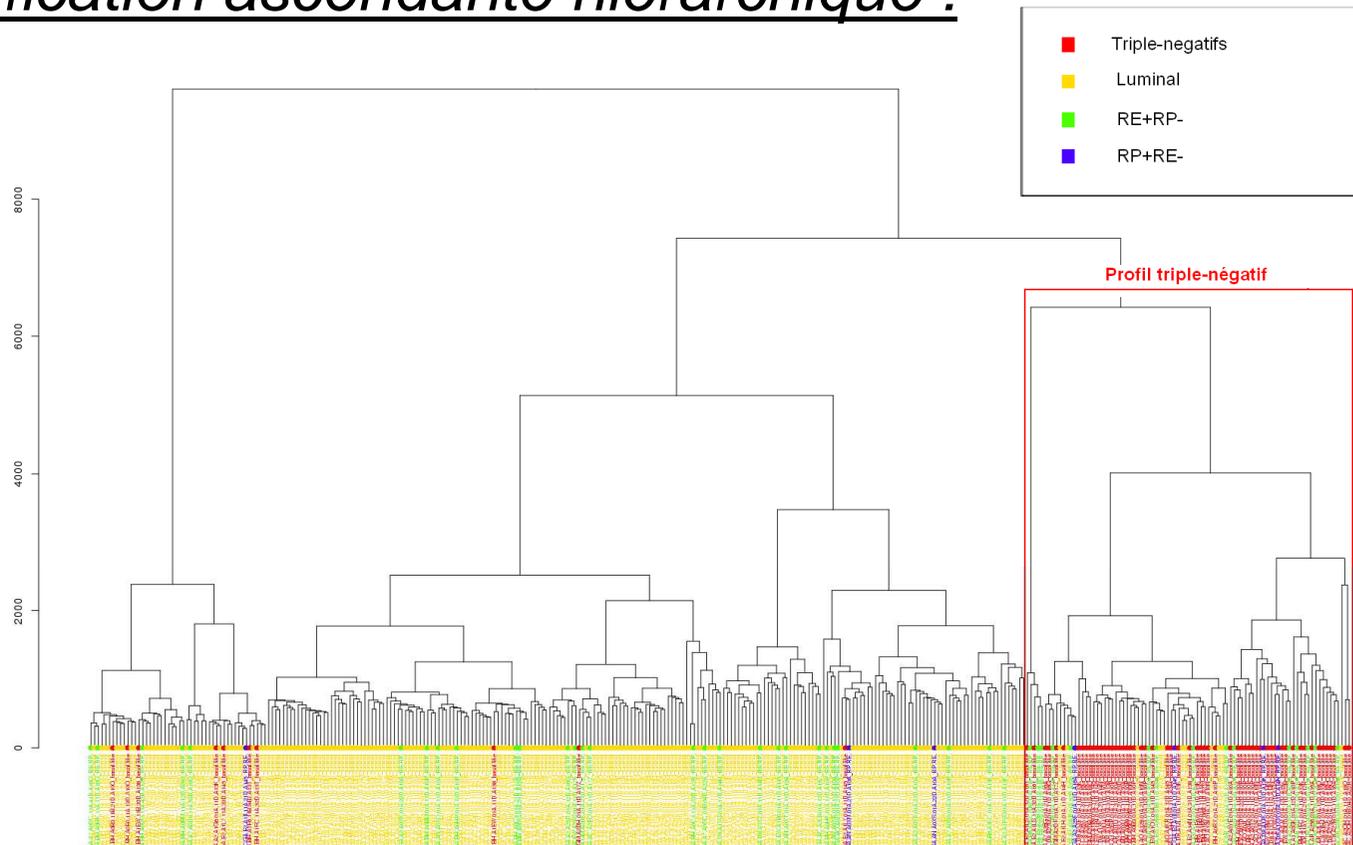
Moyenne de méthylation :



➤ Les lignées basales et mutées BRCA1 semblent globalement plus méthylées que les lignées lumineales.

Analyse des données de methylation de 341 tumeurs TCGA

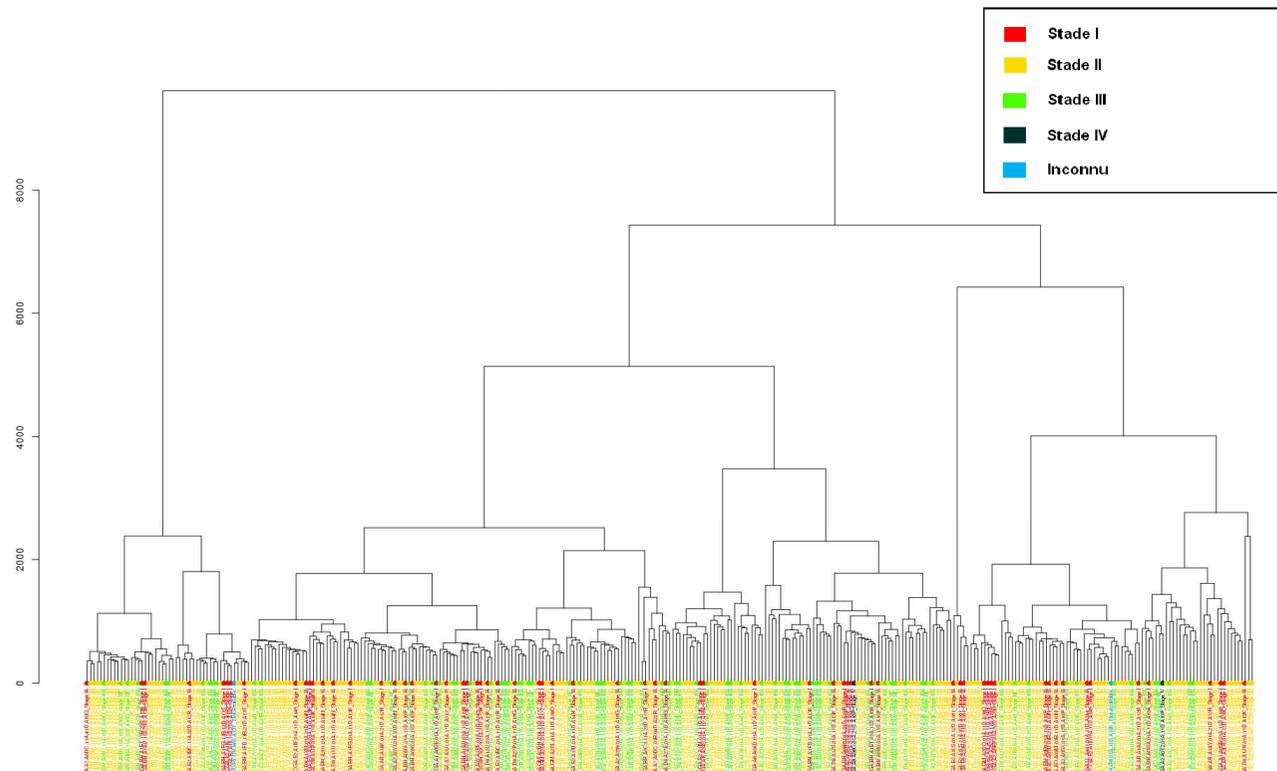
Classification ascendante hiérarchique :



➤ Les tumeurs triple-négatives présentent un profil de méthylation spécifique (Sensibilité : 82.1%, spécificité : 90.1%).

Analyse des données de methylation de 341 tumeurs TCGA

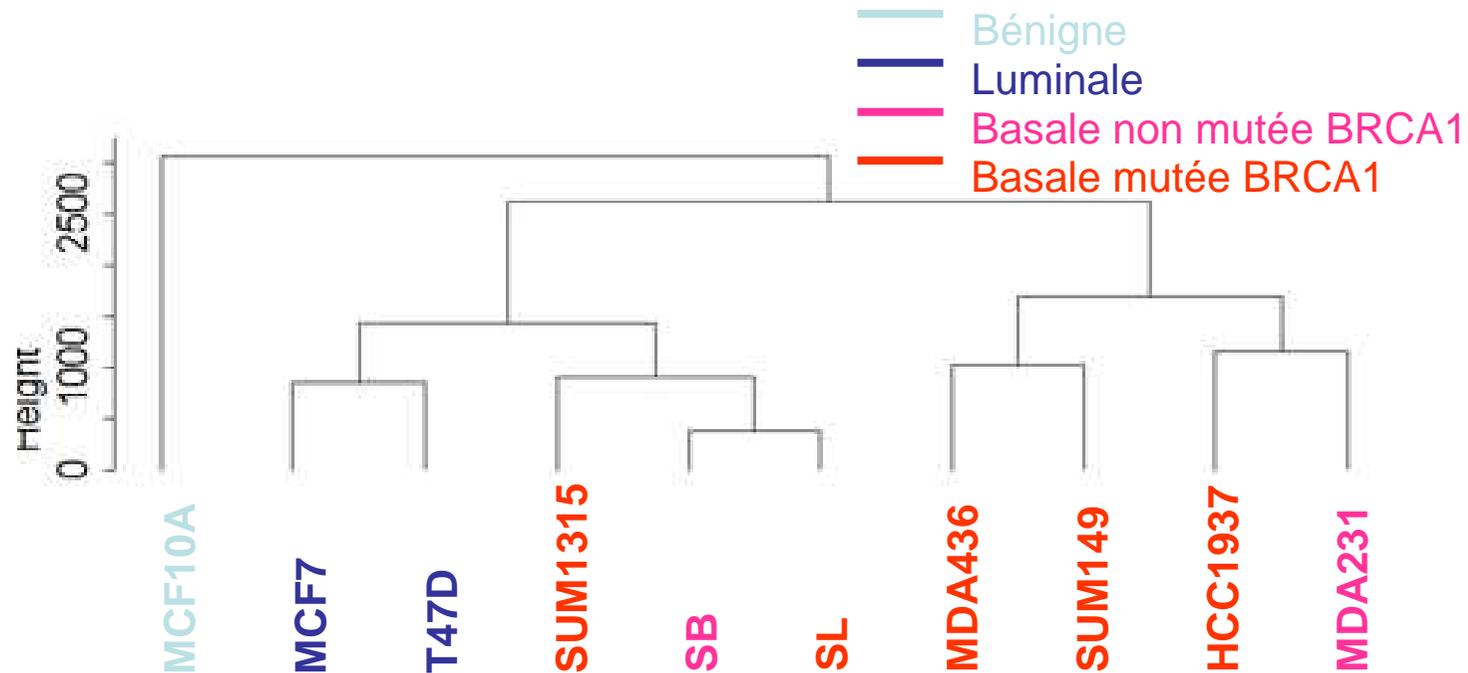
Classification ascendante hiérarchique :



➤ Pas de profil de méthylation spécifique en fonction du stade tumoral

Analyse du transcriptome

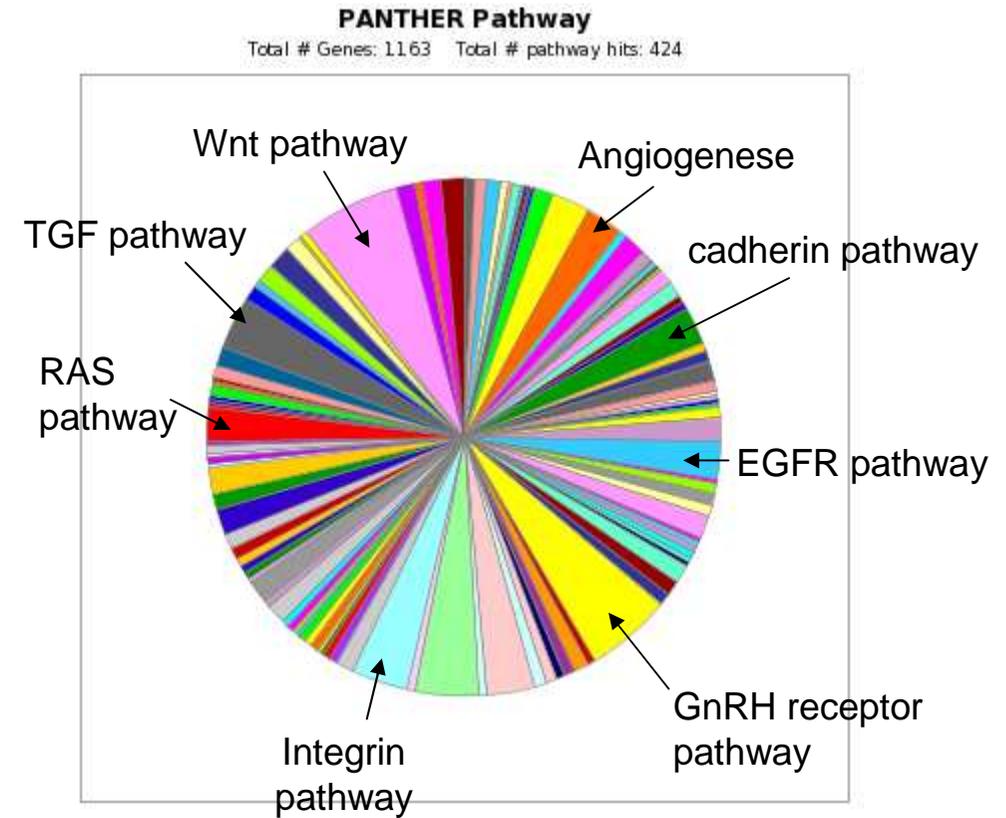
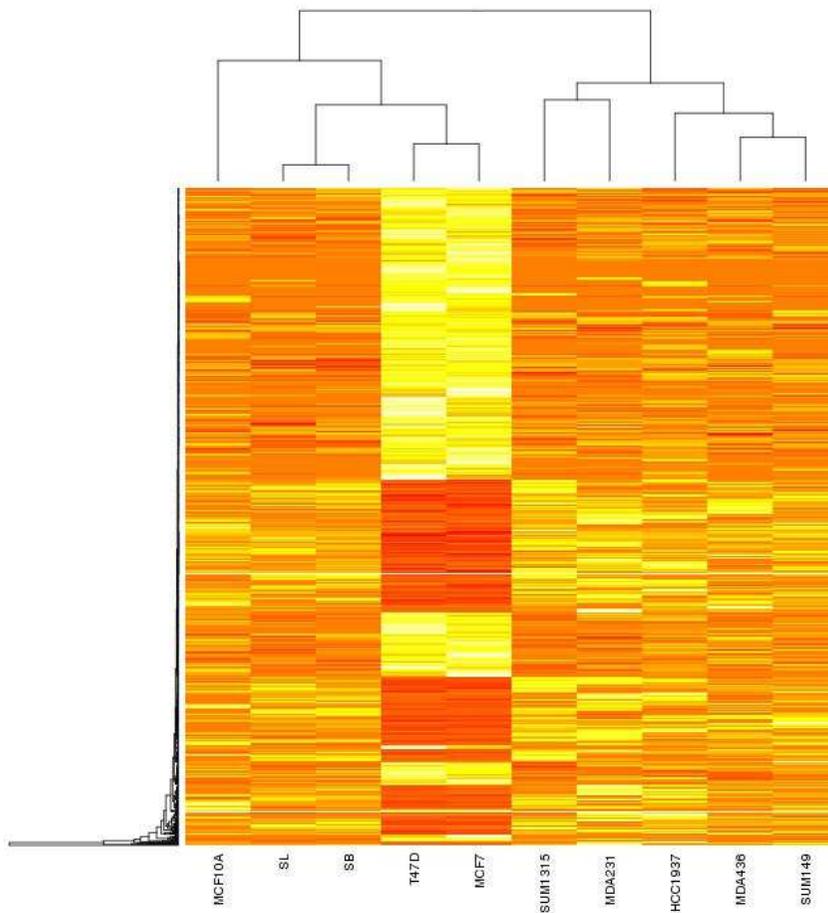
Classification ascendante hiérarchique :



- Le transcriptome par RNA-seq permet la discrimination des lignées lumineuses et basales

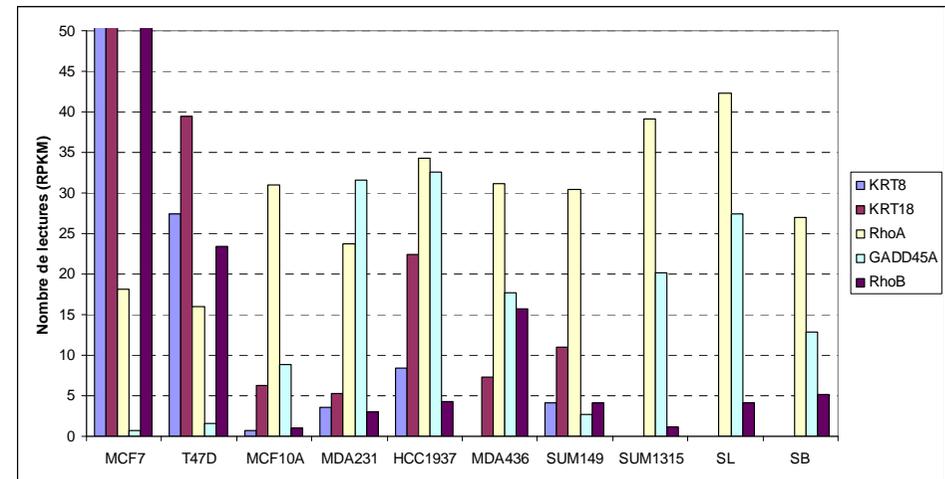
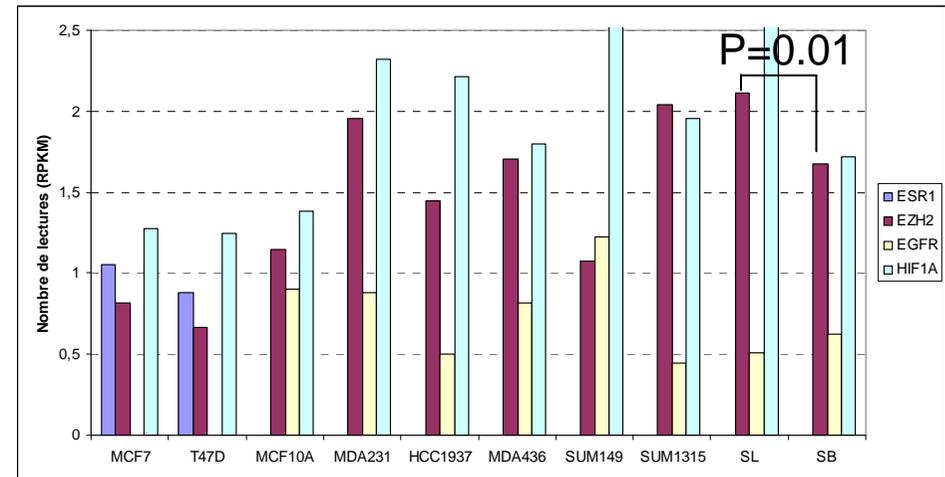
Gènes significativement régulés en fonction du sous-type (Test de Wilcoxon)

- 1205 gènes $p < 0,05$; 89 $p < 0,01$



Gènes significativement régulés en fonction du sous-type (Test de Wilcoxon)

- ESR1 (p=0.005), EGFR, KRT8 (p=0.04) et 18,
- EZH2 (methyl transferase) p=0.04
- RhoA /RhoB
- HIF1A (p=0,04)
- GADD45A



Luminales
Basales

CONCLUSION

- VALIDATION DE LA METHODE :
 - Les données de RNA-Seq permettent de retrouver les données de la littérature avec les puces ADN (classification des lignées en fonction de leur sous-type)
 - Très bonne corrélation des résultats de RNA-Seq avec RTQ-PCR TaqMan
 - Très bonne corrélation des résultats de RNA-Seq avec immunocytochimie (ER, PR, HER2, CK5/6, EGFR, IGF1R)

CONCLUSION

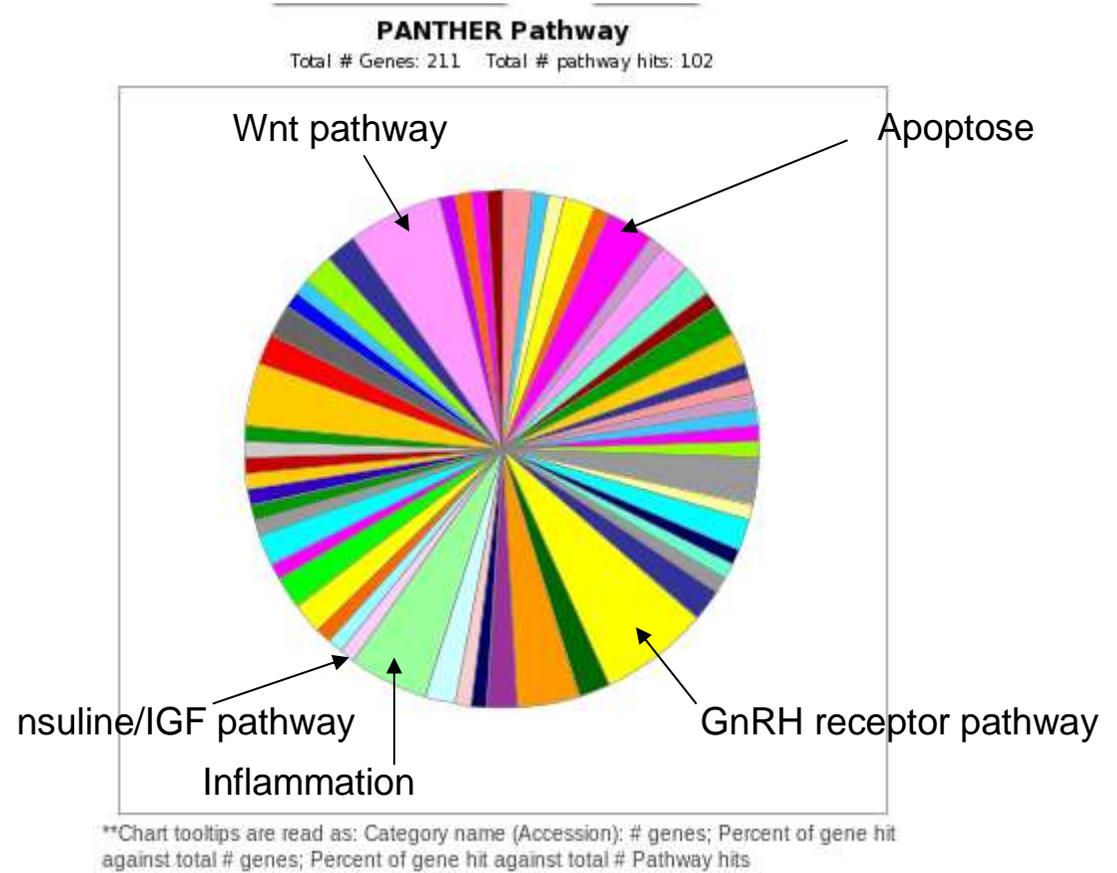
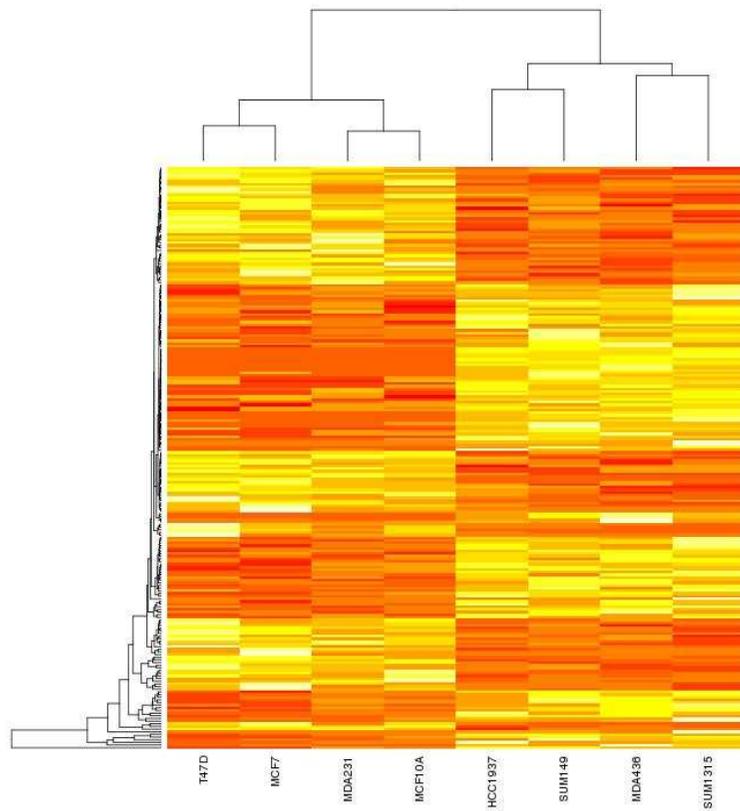
- Profil global de méthylation des lignées cellulaires mammaires ne semble pas dépendant du sous-type tumoral ≠ Profil de méthylation spécifique aux tumeurs TNBC dans projet TCGA :
 - nombre trop limité de lignées cellulaires ?
 - méthylation de l'ADN non conservée au cours de la culture cellulaire ?
- Il semble tout de même que les lignées TNBC (et mutées BRCA1) présentent une méthylation moyenne plus élevée que les lignées luminales (et non mutées BRCA1)

CONCLUSION

- RNA-seq permet de discriminer le sous-type tumoral des lignées cellulaire.
- Surexpression du gène EZH2 (methyl transferase) dans les lignées basales => Ce gène pourrait ainsi concourir au profil hyperméthylé des cellules mammaires de type basal (A SUIVRE)
- Etude spécifique de l'effet BRCA1 dans lignée TNBC en cours avec l'étude des lignées SL et SB (génération de nouvelles données de methylome pour augmenter la puissance statistique)

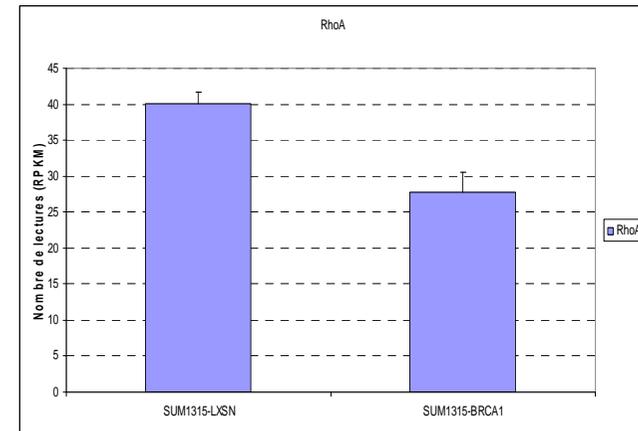
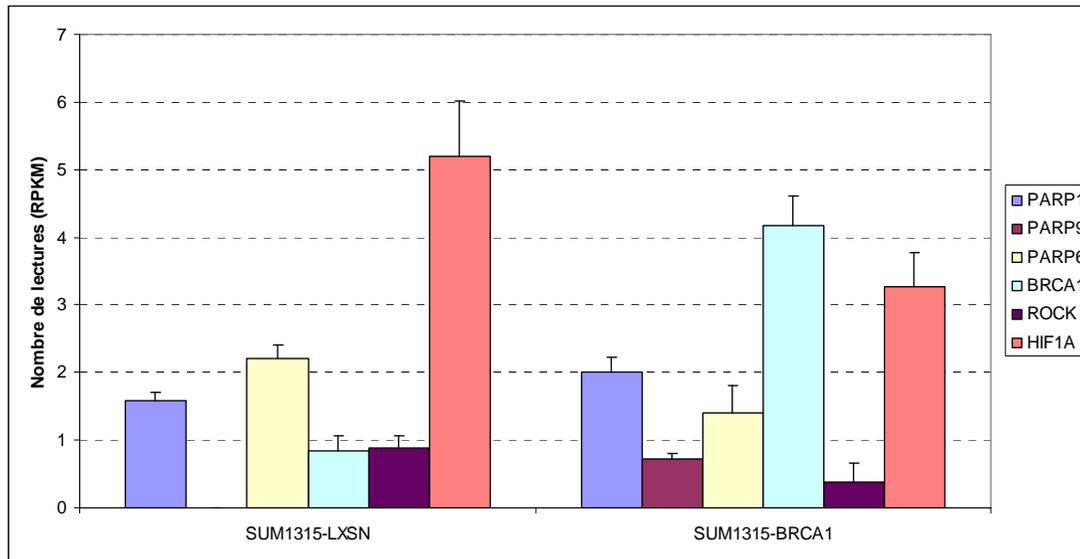
Gènes significativement régulés en fonction du statut BRCA1 (Test de Wilcoxon)

- 220 gènes $p < 0,05$



Etude spécifique SL / SB

- 980 gènes différemment exprimés entre SL et SB :
 - BRCA1
 - HK et SLC2A1 sur exprimés ds B1 muté



Gènes communs entre liste lignées mutées / non mutées et SL / SB

- 21 gènes différemment exprimés entre lignées mutées / non mutées et entre SL et SB :

CD44
INPPL1
PPP1R13L
KCTD10
JUND
PFKM
SH3KBP1
MORC4
UFD1L
CTNNBIP1
IFRD1
CIB2
CDCP1
NOV
PNPLA2
EAF2
GTF3C3
LOXL1
FAM188A
ARRDC3
HAT1
CCDC74A