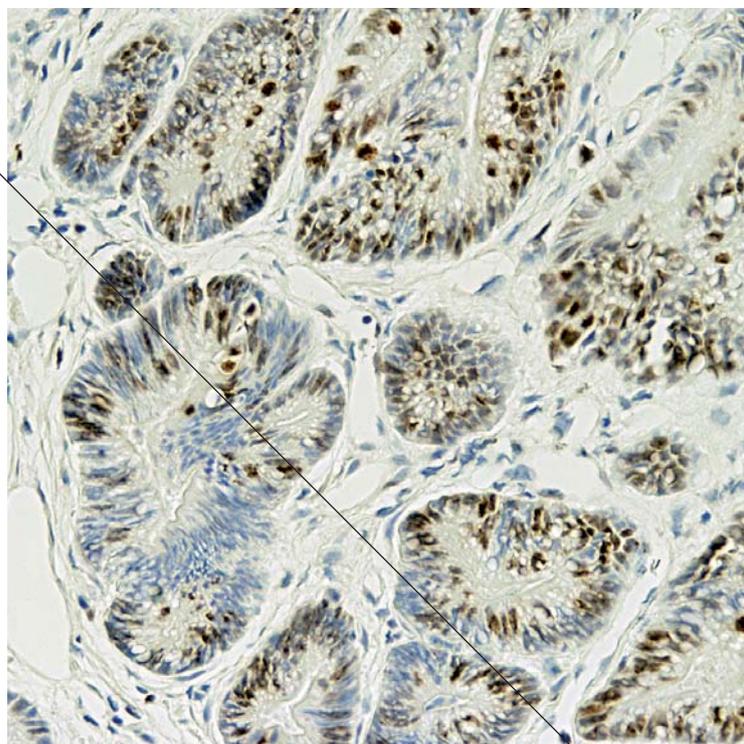


RAPPORT ANNUEL 2014

FONDATION ISREC

UNE FONDATION SOUTENANT LA RECHERCHE
SUR LE CANCER UNISSANT CHERCHEURS FONDAMENTAUX
ET CLINIENS ET FAVORISANT LA RELÈVE SCIENTIFIQUE
EN SUISSE



SOMMAIRE

Editorial	1
Billet du Président du Conseil de Fondation	
Recherche sur le cancer	2-3
Le cancer en quelques chiffres / Des résultats très encourageants / Evolution de la mortalité par cancer en Suisse entre 1993 et 2012	
Faits marquants 2014	4
Evénements organisés en faveur de la Fondation ISREC	
AGORA – Centre du cancer	5
Projet	
Projets soutenus	6
Summer Research Program	
Bourses	7-18
Cancer et immunologie / Approches moléculaires du vivant	
Chaires	19-22
Oncologie translationnelle / Oncologie fondamentale	
Fonds	23-32
Glioblastome / Sarcome / Immunothérapie du cancer / Recherche fondamentale	
Organisation	33
Conseil de Fondation / Conseil scientifique / Direction / Organe de révision	
Finances	34
Soutenir la Fondation ISREC	35
Faire un don / Déductions fiscales / Fiscalité de la Fondation	
Livre d'or	36
Remerciements	

2014, ANNÉE DU JUBILÉ ET PERSPECTIVES FUTURES

BILLET DU PRÉSIDENT DU CONSEIL DE FONDATION

Chers donateurs, amis et partenaires,

Deux étapes importantes ont jalonné l'année 2014 de la Fondation, avec d'une part la célébration de sa cinquantième année d'activité de soutien aux projets de recherche sur le cancer, et d'autre part, le dépôt de la demande du permis de construire du projet Agora – Centre du cancer auprès des autorités compétentes.

Depuis sa création le 18 juin 1964, la Fondation ISREC a notamment participé à des recherches et découvertes significatives dans les domaines de la mutagenèse, de la réparation et de l'instabilité génomique, de l'immunologie, de l'immunothérapie, du cycle cellulaire, de la biologie cellulaire, des virus et tumeurs, des oncogènes, de la différenciation cellulaire et de la bioinformatique. Les travaux accomplis par les scientifiques soutenus par la Fondation contribuent depuis maintenant plusieurs dizaines d'années à mieux comprendre les mécanismes des cellules cancéreuses et permettent d'identifier des nouvelles cibles thérapeutiques.

Aujourd'hui, avec la construction du bâtiment Agora – Centre du cancer, le rapprochement de la recherche scientifique et du monde médical marque une nouvelle étape et ouvrira sans conteste de nouvelles perspectives aux scientifiques que nous soutenons.

Fidèles à notre première mission, le soutien à la recherche sur le cancer, nous avons accordé des bourses à des étudiants du programme d'été UNIL/EPFL pour des stages en laboratoires. Nous avons également octroyé une nouvelle chaire en oncologie translationnelle au Prof. Elisa Oricchio qui a été nommée en qualité de Professeure assistante tenure track à la Faculté des sciences de la vie de l'EPFL (EPFL/SV/ISREC) en novembre 2014.

Les nombreux succès qui créent l'histoire de la recherche sur le cancer et les statistiques de ces dernières années démontrent des résultats encourageants. C'est dans cet esprit positif que notre Fondation poursuit sa mission de soutien. Mission que nous pouvons accomplir grâce à votre engagement et à votre fidélité. Votre participation est essentielle à la réalisation de nos projets.

Un grand merci à vous,



Yves J. Paternot

RECHERCHE SUR LE CANCER

QUELQUES CHIFFRES SUR LE CANCER

Le cancer désigne plus d'une centaine de maladies : en effet, tous les tissus de l'organisme peuvent être atteints, et pour certains, plusieurs types de cancers sont possibles. Cette maladie reste la 2^{ème} cause de mortalité en Suisse (après les maladies cardiovasculaires).

En Suisse, environ 38'000 nouveaux cas sont déclarés chaque année et 16'500 décès recensés (estimation NICER pour 2011 - National Institute for Cancer Epidemiology and Registration, 2014).

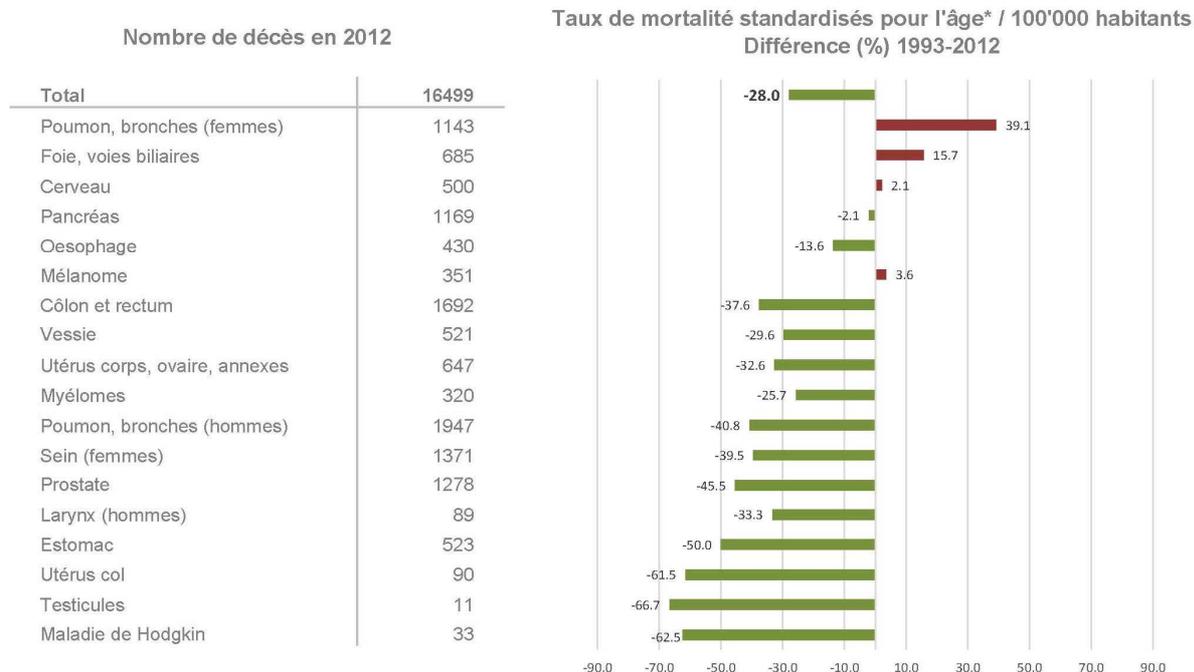
Quelque 127'000 personnes vivent en Suisse avec un cancer diagnostiqué depuis moins de 5 ans (prévalence) (Source : Globocan 2012).

Aujourd'hui en Suisse, quatre personnes sur dix (un homme sur deux et une femme sur trois env.) sont touchées au cours de leur vie par cette maladie, et six sur dix peuvent en guérir.

Le risque d'être atteint d'un cancer avant l'âge de 70 ans est d'environ 25% pour les hommes et de 20% pour les femmes (Sources : OFS, NICER, 2012).

Pour tous les cancers réunis, la survie relative à 5 ans est estimée en Suisse à 57% pour les hommes et à 63% pour les femmes (Source : EURO CARE 5, à partir des données des registres cantonaux).

ÉVOLUTION DE LA MORTALITÉ PAR CANCER EN SUISSE (1993-2012)



* Population standard européenne

Source : Office fédéral de la statistique, Neuchâtel

RECHERCHE SUR LE CANCER

RÉSULTATS TRÈS ENCOURAGEANTS

Même si le nombre de cas a augmenté au cours des deux dernières décennies (en particulier en raison du vieillissement de la population), on observe une baisse importante des taux de mortalité pour l'ensemble des cancers (-28% entre 1993 et 2012). Cette baisse est due aux progrès diagnostiques et thérapeutiques, ainsi qu'à une détection plus précoce des cancers.

Chez les femmes, le cancer le plus fréquent (au décès en 2012) est le cancer du sein, suivi de près du cancer du poumon et, en troisième position, du cancer du côlon et du rectum. Au diagnostic (incidence 2011) : 1) sein, 2) côlon et rectum, 3) poumon et 4) mélanome de la peau (Sources : OFS, NICER, 2013).

Chez les hommes, le cancer du poumon est le plus fréquent (au décès en 2012), suivi du cancer de la prostate et du cancer du côlon et du rectum. Au diagnostic (incidence 2011) 1) prostate, 2) poumon, 3) côlon et rectum et 4) mélanome de la peau (Sources : OFS, NICER, 2014).

En Suisse, la mortalité de plusieurs cancers parmi les plus fréquents a régressé depuis la fin des années 80. Parmi ces types de tumeurs, on peut citer le « côlon et rectum » et l'estomac chez les deux sexes ainsi que le cancer du sein chez la femme, dont les thérapies et le dépistage sont en constante évolution.

Cependant, la mortalité par cancer pulmonaire a connu une très forte augmentation chez les femmes, conséquence de l'accroissement du nombre de fumeuses dans les jeunes générations, alors que cette maladie a régressé chez les hommes.

Bien que la mortalité due au cancer diminue, cette maladie a peu de chances de disparaître. L'objectif à terme est de la transformer en maladie chronique qu'il sera possible de maîtriser et/ou guérir.

A noter qu'en 1990, on dénombrait approximativement 140'000 personnes vivantes chez lesquelles un diagnostic de cancer avait été un jour posé (« cancer survivors »). Ce nombre a depuis lors constamment augmenté ; on estime qu'il atteindra 316'500 en 2015, soit presque 4% de la population suisse (Source : NICER). Cette évolution rapide entraîne des besoins accrus de soins et de nouvelles offres de prises en charge adaptées aux exigences de réinsertion des survivants de longue durée.

AGORA – CENTRE DU CANCER

LA FONDATION ISREC, MAÎTRE D'OUVRAGE D'UN PROJET D'ENVERGURE

Le projet AGORA a pour but de créer sur le site hospitalier lausannois une infrastructure de grande qualité qui pourra accueillir dès 2017 près de 300 chercheurs et cliniciens.

Maître d'ouvrage de ce bâtiment, la Fondation ISREC soutient grâce au projet AGORA, le nouveau centre interdisciplinaire de recherche appliquée sur le cancer qui réunira les compétences des milieux universitaires, des écoles polytechniques, des hôpitaux et cliniques, des institutions publiques et privées.



Ce bâtiment permettra de réunir des équipes pluridisciplinaires composées de médecins, biologistes, immunologistes, bioinformaticiens et bioingénieurs des différentes institutions partenaires. Leurs nombreuses et constantes interactions permettront d'accélérer le développement de nouvelles thérapies et d'en faire bénéficier aussitôt le patient.

Le centre intégré et interactif AGORA permettra dans un proche avenir de réaliser des progrès dans la connaissance des mécanismes propres à chaque pathologie et de mettre au point des thérapies ciblées et optimisées pour le bénéfice des patients.

Chercheurs et cliniciens pourront ainsi apporter ensemble les réponses aux multiples défis posés par le cancer, que ce soit par l'échange et la confrontation de points de vue ou de diagnostics et d'approches thérapeutiques.



Vue intérieure laboratoires



Vue intérieure atrium

PROJETS SOUTENUS

PROGRAMME D'ÉTÉ POUR ÉTUDIANTS NON GRADUÉS (SUR/SRP)

La Fondation ISREC a soutenu pour la septième année consécutive, le stage de cinq étudiants UNIL/CHUV et de sept étudiants de l'EPFL dans les laboratoires de recherche sur le cancer. Durant huit semaines (du 3 juillet au 27 août 2014), les jeunes biologistes ou médecins sélectionnés ont bénéficié d'un premier contact avec le monde de la recherche et ont ainsi acquis une expérience très enrichissante et une opportunité de tisser de nouveaux liens au niveau international. Au terme de ce programme, ils ont eu l'occasion de présenter leurs travaux lors d'un mini symposium qui s'est déroulé sur le campus de l'UNIL le 26 août 2014.



Photo : Etudiants du programme d'été 2014 organisé conjointement par la Faculté de Biologie et de Médecine de l'UNIL et par la Faculté des Sciences de la Vie de l'EPFL

SUJETS TRAITÉS

ALIBHE NI CHOSGORA

Groupe Prof. Daniel Constam – EPFL/SV/ISREC

Modification de l'expression des gènes de proprotéines convertases de l'activine-A dans une lignée cellulaire de mélanome

ALYSSA BENJAMIN

Groupe Prof. Joachim Lingner – EPFL/SV/ISREC

Validation de la protéine CEP170 en tant que protéine se liant aux télomères

DMITRY GORBATCHEV

Groupe Prof. Melody Swartz – EPFL/SV/IBI
Expression de Prox1 dans des cellules endothéliales lymphatiques

HOSSEIN TAHERI

Groupe Prof. Cathrin Brisken – EPFL/SV/ISREC
Pilule contraceptive et les risques de cancer du sein

SHENG KAI PONG

Groupe Prof. Pierre Gönczy – EPFL/SV/ISREC
Analyse fonctionnelle des domaines protéiques de SAS-5 dans des embryons de *C. elegans*

LAUREN WATKINS

Groupe Prof. Jeffrey A. Hubbell – EPFL/SV/IBI
Suppression spécifique des tumeurs moyennant l'ingénierie de protéines

PINAK SAMAL

Groupe Prof. Yann Barrandon – UNIL/CHUV
Expression de Piezo2 dans les cellules de Merkel lors du développement embryonnaire du follicule de vibrissae de souris

WAAD ALBAWARDI

Groupe Prof. Vincent Dion – UNIL/CIG
Le complexe NuRD est-il impliqué dans l'instabilité des répétitions de triplets ?

SARAH ARTHUR

Groupe Prof. Alexandre Reymond – UNIL/CIG
La fonction de MAPK3 dans le syndrome de délétion 16p11.2

CONSTANTINOS CONSTANTINIDES

Groupe Prof. Winship Herr – UNIL/CIG
HCF-2 associée à la sous-unité HCF-1c

ELGIN GULPINAR

Groupe Prof. Tatiana Petrova – UNIL/DEO
Analyse cytosquelette de cellules endothéliales lymphatiques transfectées avec de l'ARN sifoxc2

PRITHWIJIT SARKAR

Groupe Prof. Sophie Martin – UNIL/DMF
Développement d'un système optogénétique permettant l'activation ciblée du facteur de polarité cellulaire Cdc42 chez *Schizosaccharomyces pombe*

BOURSES

BOURSE « CANCER ET IMMUNOLOGIE »**Rôle de la signalisation Notch dans le mésenchyme pendant le développement et la progression du mélanome**

Cette "bourse ISREC" d'une valeur de CHF 40'000.- par année a été attribuée à Elena Menietti en juin 2011 pour une durée de quatre ans

Elena Menietti effectue ses travaux dans les laboratoires du Professeur Gian-Paolo Dotto (département de Biochimie, UNIL)

Introduction

L'objectif du projet est de déterminer si les altérations de la communication intercellulaire résultant de l'inhibition de la signalisation de Notch peuvent jouer un rôle dans le développement et la progression des tumeurs de la peau.

Le projet original, comme suggéré par le titre, se consacrait au mélanome. Cependant, le rôle de la signalisation Notch dans ce contexte n'est pas très clair. Nous avons donc décidé de concentrer nos efforts sur le carcinome à cellules squameuses, une des tumeurs solides humaines les plus fréquentes. Le rôle de Notch y est bien documenté.

Il a été démontré que le micro-environnement de la tumeur exerce une influence capitale sur le développement et la progression de celle-ci. Cette constatation fait passer la recherche sur le cancer à un niveau plus compliqué, où non seulement les voies de signalisation dans la cellule elle-même sont importantes, mais aussi la relation de ces cellules avec celles qui les entourent ainsi qu'avec leur environnement ; le stroma tumoral, par exemple, abrite des fibroblastes chroniquement activés (chronically activated fibroblasts, CAF) qui, contrairement aux fibroblastes normaux, ont la capacité d'améliorer la tumorigénèse et/ou l'invasivité des cellules cancéreuses en formant une niche appropriée pour le développement du cancer. Les CAF sont à même d'interagir avec la tumeur grâce à la production de divers facteurs diffus, voire grâce à des interactions de cellule à cellule.

Nous sommes d'avis que le stroma normal ainsi que les cellules épithéliales sont en mesure d'interagir avec la tumeur, peut être en atténuant son agressivité.

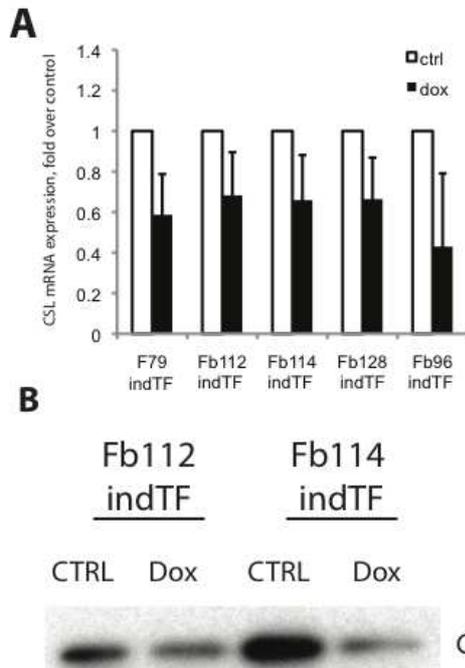
La voie de signalisation Notch est très importante dans la communication intracellulaire et est dépendante du contexte. Elle peut agir comme un suppresseur de la tumeur, par exemple dans les kératinocytes, ou comme un oncogène, tel le cas dans les mélanocytes.

Certaines expériences ont démontré que dans le compartiment du mésenchyme, la perte de la voie de signalisation Notch peut causer un phénotype CAF.

Résultats après la troisième année

Comprendre la régulation du facteur de transcription CSL dans les fibroblastes est très important. Ces connaissances pourraient nous aider à trouver un moyen de récupérer l'expression de CSL dans les fibroblastes chroniquement activés et d'agir sur le microenvironnement pour limiter la croissance de la tumeur. Comme nous l'avons déjà démontré, les CAF peuvent être induits par la perte de CSL. Notre objectif est donc de comprendre les acteurs dans la régulation du CSL.

Les objectifs de la troisième année du projet étaient : 1) de comprendre les voies de signalisation pouvant réguler CSL ; 2) de relier ces voies avec la réponse aux UVA et à la signalisation pro-fibrotique ; 3) de comprendre si les différences dans la régulation de CSL peuvent être liées à des différences dans l'occurrence du carcinome épidermoïde dans les différentes populations humaines.



(A) Les fibroblastes provenant d'individus différents et présentant une surexpression du facteur de transcription d'intérêt exhibent une régulation négative de CSL au niveau de l'ARN.

(B) Les fibroblastes provenant d'individus différents et présentant une surexpression du facteur de transcription d'intérêt exhibent une régulation négative de CSL au niveau de la protéine.

Pour répondre à ces questions, nous avons, dans un premier temps, profité de plusieurs outils bioinformatiques pour étudier tous les polymorphismes nucléotidiques uniques (single nucleotide polymorphism, SNP) dans les régions régulatrices de CSL qui étaient présents avec une fréquence différente parmi les populations. Les SNP sont essentiellement des différences dans la séquence de l'ADN qui se produisent chez les individus et qui impliquent la mutation d'un nucléotide à un autre.

La plupart de ces SNP sont communs, et il existe des tendances dans la distribution statistique de ces SNP dans les populations. Normalement, le changement

d'un SNP n'affecte pas le comportement correct des cellules, mais il peut induire de légères modifications qui font que chaque individu est unique. Nous avons identifié plusieurs SNP présents plus fréquemment dans une population que dans une autre, comparant, dans un premier temps, des individus caucasiens et africains. Tout ce travail ayant été effectué moyennant les bases de données accessibles au public, nous avons confirmé les fréquences prédites en séquençant les régions régulatrices de CSL de personnes d'origine africaine et caucasienne. Nous avons ensuite cherché les sites de liaison prédits des facteurs de transcription qui avaient été, *in silico*, affectés par ces SNP. Nous avons constaté que certains des facteurs de transcription, dont nous avons prédits qu'ils se lient dans les régions régulatrices de CSL, et qui sont touchés par les SNP, sont des intervenants susceptibles de stress cellulaire. Cela signifie que ces facteurs de transcription sont probablement le lien entre l'exposition aux UVA (qui, comme nous l'avons démontré au cours de la deuxième année, est capable de réguler l'expression de CSL) et la régulation à la baisse de CSL.

On ne sait encore rien sur la régulation de la transcription CSL. Nous avons donc entrepris de déterminer si ces facteurs de transcription sont en effet capables de réguler l'expression de CSL. Nous avons commencé avec l'un d'eux, et avons pu démontrer que sa surexpression est capable de réguler à la baisse CSL au niveau de l'ARN. Nous avons également pu démontrer que le silençage de ce facteur de transcription est capable d'induire la transcription CSL.

Nous faisons maintenant la même enquête concernant la surexpression et la répression du facteur de transcription pour les autres facteurs de transcription que nous avons identifiés. Nous effectuons également une immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) pour déterminer si ces facteurs de transcription peuvent vraiment se lier à des régions régulatrices de CSL pour réguler sa transcription.

BOURSES

BOURSE « CANCER ET IMMUNOLOGIE »

Le rôle de Notch dans la différenciation des cellules TH17 et son lien avec le cancer

Cette "bourse ISREC" d'une valeur de CHF 40'000.- par année a été attribuée à Manuel Coutaz en juin 2011 pour une durée de quatre ans

Manuel Coutaz effectue ses travaux dans les laboratoires de la Professeure Fabienne Tacchini-Cottier (département de Biochimie, UNIL)

Introduction

Nous sommes actuellement en train d'étudier le rôle de l'expression de Notch1 (N1) et Notch2 (N2) dans la différenciation cellulaire des TH17 et dans le développement d'une réponse TH17 dans le microenvironnement tumoral. La fonction des cellules TH17 et de l'IL-17 semble être dépendante du contexte, pouvant jouer un rôle promoteur ou répresseur dans la croissance tumorale.

Le rôle de la signalisation des récepteurs Notch dans la différenciation des cellules TH17 est actuellement en cours d'étude *in vivo* dans un modèle expérimental murin de cellules de mélanome B16 et également dans d'autres modèles induisant une réponse TH17. Il a été signalé que dans le modèle de mélanome B16, l'IL-17 secrétée par les cellules TH17 influence la croissance tumorale. Des souris portant une délétion des récepteurs Notch1 et Notch2 dans les cellules T (N1N2 Δ CD4Cre) seront utilisées afin d'identifier le rôle de la signalisation des récepteurs Notch dans la différenciation des cellules TH17, en utilisant différents modèles expérimentaux.

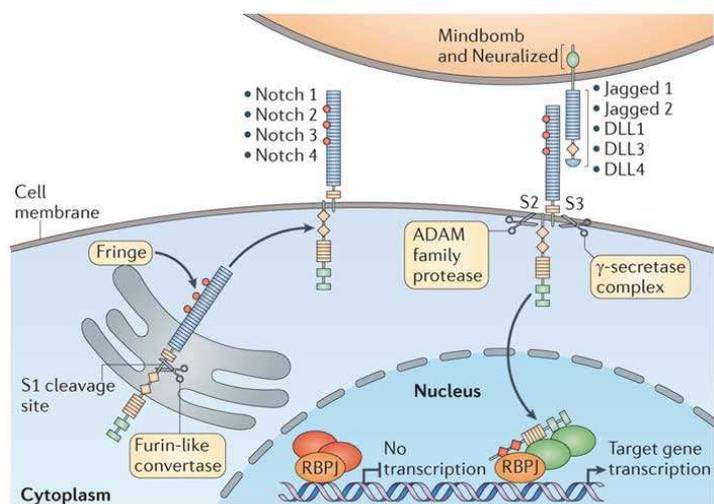
Résultats après la troisième année

Le rôle de la signalisation des récepteurs Notch a été d'abord étudié *in vitro*. Nous avons démontré que N1, et dans une moindre mesure N2, sont exprimés à la surface des cellules TH17. De plus, une expression compensatoire de N3 et N4 n'a pas été observée à la surface des cellules TH17 en l'absence de N1 et N2. De manière intéressante, en l'absence de Notch, une réduction de la sécrétion d'IL-17A a été observée en présence d'une dose faible de signaux d'activation du TCR utilisés *in vitro* pendant la différenciation des cellules TH17.

Cette observation suggère que la signalisation de Notch joue un rôle actif dans le contrôle de la fonction effectrice des cellules TH17. Afin d'investiguer si la signalisation des récepteurs Notch influence la libération d'IL-17A *in vivo*, nous avons injecté des souris N1N2 Δ CD4Cre et leur contrôles respectifs avec de l'ovalbumine (OVA) dans l'adjuvant complet de Freund (CFA), dont il a été signalé qu'il a la capacité d'induire une réponse de cellules TH17.

D'après Radtke F, MacDonald HR, Tacchini-Cottier F, NRI, 2013

La voie de signalisation Notch est initiée par l'engagement du ligand avec le récepteur Notch. Il existe 4 récepteurs Notch (N1-N4) et 5 ligands Notch (delta-like (Dll) 1, 3, et 4 ; Jagged 1 et 2). Dans sa forme canonique, le domaine intracellulaire de Notch pénètre dans le noyau cellulaire et s'associe à un répresseur transcriptionnel RBP-Jk qui déplace le complexe du co-répresseur et active l'expression des gènes cibles de Notch.

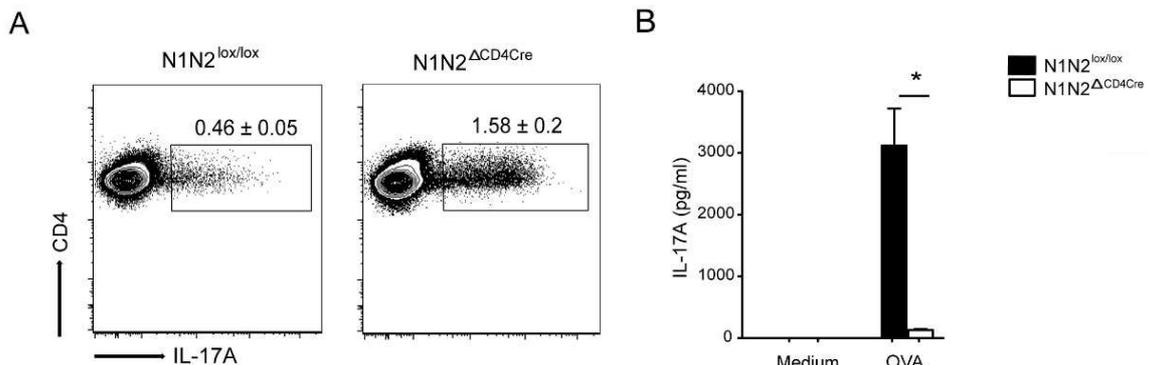


Comme nous avons démontré dans le modèle de mélanome B16, les N1N2 Δ CD4Cre ont un niveau augmenté d'IL-17A intracellulaire dans les cellules T CD4+ en réponse à l'injection d'OVA dans le CFA (Figure 2). Cependant, suivant une restimulation par l'antigène *in vitro*, les cellules T CD4+ N1N2 Δ CD4Cre secrètent significativement moins d'IL-17A que les souris contrôle. En résumé, ces données montrent que la voie de signalisation des récepteurs Notch joue un rôle critique dans la régulation des fonctions effectrices des cellules TH17, avec un impact spécifique sur la sécrétion d'IL-17A. Afin d'étendre ces observations aux cellules TH17 pathogéniques (cellules T IL-17A+ IFN- γ + CD4+), un autre type de cellules TH17, nous avons utilisé un modèle de transfert adoptif, pour lequel il a été signalé que le développement de la réponse des cellules TH17 influence la progression de la colite expérimentale. Lors des symptômes initiaux, les souris receveuses transférées avec des cellules CD4+ T contrôle et N1N2 Δ CD4Cre présentent un développement similaire de la colite. Cependant, nous avons observé une réduction de la fréquence des cellules T CD4+ IL-17A+ et des IL-17A+IFN- γ + dans le colon des souris receveuses transférées avec des cellules CD4+ T N1N2 Δ CD4Cre. De plus, comparé aux contrôles, des niveaux réduits d'IL-17A ont été mesurés dans les surnageants des cellules restimulées du colon des souris transférées avec les cellules CD4+ T. En résumé, nos résultats montrent que la voie de signalisation Notch a un impact sur la différenciation des cellules TH17 à la fois *in vitro* et *in vivo*.

Perspective

Nous allons investiguer comment la voie de signalisation des récepteurs Notch influence la sécrétion de la cytokine. Nous voulons visualiser par microscopie fluorescente le compartiment cellulaire dans lequel les cytokines TH17 s'accumulent dans les cellules TH17 en l'absence du signal Notch. Nous allons ensuite nous intéresser aux différentes protéines candidates impliquées dans la sécrétion de cytokine, afin d'investiguer si Notch est en mesure de réguler leur expression. Par l'injection de cellules du B16 OVA, nous voulons en outre déterminer si la sécrétion d'IL-17A est également affectée dans le modèle de mélanome B16, afin d'évaluer la sécrétion des cellules N1N2 Δ CD4Cre TH17 isolées des ganglions drainants la tumeur après restimulation avec l'antigène OVA.

Figure 2



N1N2 lox/lox (souris contrôle) et N1N2 Δ CD4Cre ont été injectées avec l'OVA émulsifiée dans le CFA pendant 9 jours. **(A)** Les niveaux intracellulaires d'IL-17A ont été mesurés après restimulation avec la PMA/Ionomycine dans les cellules CD4+ T. Les chiffres dans les plots FACS montrent la fréquence d'IL-17A+ dans les cellules CD4+ T \pm SEM. **(B)** 9 jours après l'injection de l'OVA/CFA, les cellules CD4+ T des ganglions lymphatiques drainants ont été isolées et restimulées pendant 72 heures avec ou sans OVA (medium). Les valeurs moyennes de la cytokine IL-17A \pm SEM sont indiquées.

BOURSES

BOURSE « CANCER ET IMMUNOLOGIE »

Interactions entre les lymphocytes T et les cellules de mélanome

Cette « bourse affectée », d'une valeur de CHF 40'000.-, a été attribuée à Natalie Neubert avec le soutien de la Fondation Zwillenberg en janvier 2015 pour une durée d'un an

Natalie Neubert effectue ses travaux dans les laboratoires du Professeur Daniel Speiser, groupe de Biologie des tumeurs cliniques & d'immunothérapie, LICR@UNIL

Introduction

En 2008, plus de 67'000 nouveaux cas de mélanome ont été diagnostiqués en Europe et plus de 14'000 décès dus au mélanome ont été enregistrés. La Suisse est, avec la Norvège, le pays européen le plus touché par ce cancer. En dépit d'importants progrès dans le traitement de cette maladie, le pronostic vital des patients reste défavorable lorsque le mélanome devient métastatique.

Une des nouvelles cibles thérapeutiques développées actuellement est le lymphocyte T cytotoxique (CTL) CD8+. Ces lymphocytes jouent un rôle prépondérant dans la réponse immunitaire anti-tumorale, car ils sont capables d'infiltrer et d'attaquer la tumeur. Malheureusement, malgré le développement de thérapies augmentant la fonctionnalité et le nombre de CTL, ces lymphocytes restent incapables d'éradiquer les cellules tumorales, et une rechute du patient est souvent observée.

Comment les cellules tumorales peuvent-elles survivre et croître en présence de CTL pourtant capables de cibler spécifiquement les cellules tumorales? Nous avons choisi d'étudier les interactions existant entre CTL et cellules tumorales. Nous nous intéressons en particulier aux réactions des cellules tumorales lors de leur rencontre avec ces CTL.

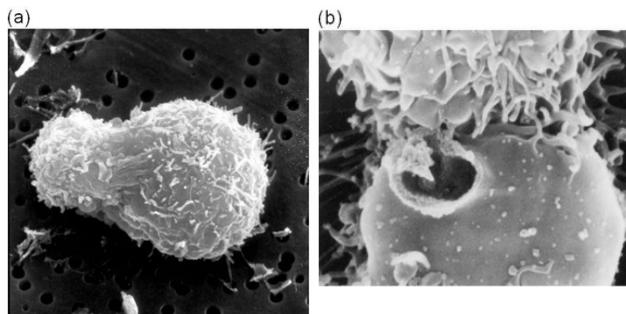
Une meilleure compréhension du réseau complexe d'interactions positives et négatives entre ces cellules permettra de découvrir de nouvelles molécules cibles et d'ouvrir de nouveaux champs thérapeutiques contre le mélanome.

Résultats après trois ans

Afin d'étudier ces interactions, nous avons mis en place un système de co-culture de lignées cellulaires de mélanome avec des CTL capables de les cibler. Le mélanome se développe à partir de mélanocytes, des cellules pigmentées se trouvant avant tout dans la peau mais aussi dans l'œil et dans l'oreille interne. Ils expriment des antigènes spécifiques au mélanome tels que MelanA. Cet antigène peut être reconnu par les CTL via leur récepteur de cellule T.

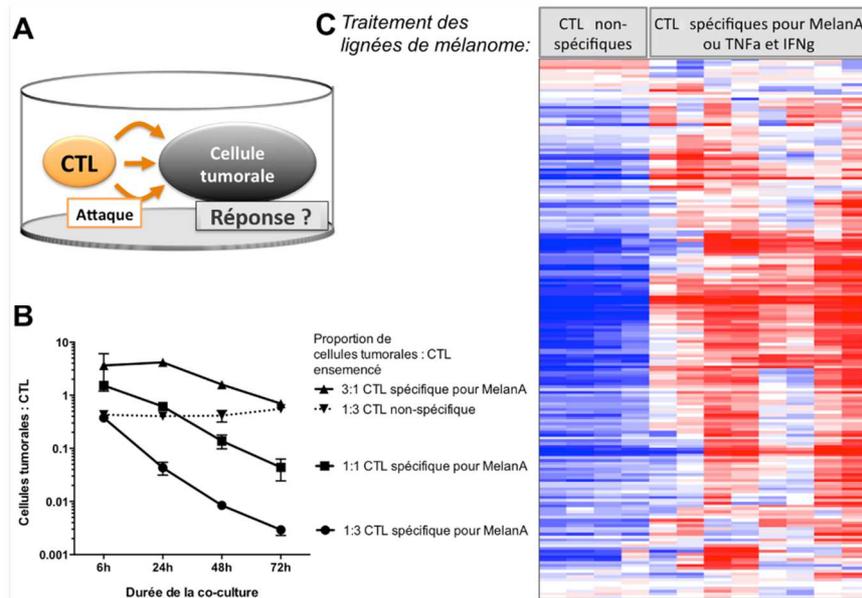
Nous avons mis en place des systèmes de co-culture pour plusieurs lignées de mélanome provenant de patients différents. La validité de ce système de co-culture a été confirmée en étudiant l'évolution de plusieurs paramètres connus. Nous avons notamment pu constater une augmentation de la production de CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe I, et une diminution de l'antigène cible MelanA. Ces observations ont permis de démontrer la fiabilité du système de co-culture.

Afin de caractériser les interactions entre CTL et cellules tumorales, des cellules tumorales ayant survécu à la présence de CTL ont été comparées avec des cellules tumorales non-traitées. Une analyse de l'expression de l'ensemble des gènes a révélé que plusieurs centaines de gènes sont exprimés différemment après un bref contact avec les CTL. Les différentes lignées de cellules cancéreuses provenant de différents patients réagissent de manière similaire.

**Microscopie électronique**

(A) Interaction étroite entre un lymphocyte T (à gauche) et une cellule tumorale (à droite). (B) On observe également une perforation létale de la cellule tumorale endommagée par le lymphocyte T. Ce dernier, après s'être détaché de la cellule, se dirige vers d'autres cellules tumorales (ASM MicrobeLibrary©Young).

Les 185 gènes les plus prometteurs ont été étudiés de manière plus approfondie. Nous avons pu démontrer que plus de 80 de ces gènes changent d'expression en présence de CTL ayant une spécificité antigénique pour les cellules tumorales, et non en présence de CTL non-spécifiques. Ces observations mettent en lumière la capacité des cellules tumorales à réagir uniquement en présence de ces CTL spécifiques. Il est intéressant de noter que la présence de TNF α et d'IFN γ , deux cytokines sécrétées par les CTL au contact de leurs cellules cibles, suffit à faire réagir les cellules tumorales de manière similaire à la présence des CTL eux-mêmes. Un contact entre les cellules ne semble donc pas indispensable pour provoquer la majorité des changements observés. Ainsi, les facteurs sécrétés par les CTL attaquant les cellules tumorales peuvent également avoir une influence sur les cellules avoisinantes.



- (A) Modèle pour l'interaction des CTL spécifiques pour MelanA avec les lignées de mélanome.
- (B) Développement des rapports cellulaires tumorales / CTL lors d'une co-culture. Des CTL non-spécifiques (qui ne reconnaissent pas les cellules tumorales) sont utilisés comme contrôle négatif.
- (C) Changement de l'expression de 185 gènes de cellules de mélanome traitées avec i) des CTL non-spécifiques, ii) des CTL spécifiques au mélanome et iii) les cytokines TNF α /IFN γ . Chaque colonne représente une lignée cellulaire de mélanome avec le traitement indiqué. Chaque ligne indique les changements d'expression d'un gène donné (par rapport à la lignée non-traitée). La couleur bleue indique l'absence de changement ou la répression de l'expression, le blanc indique une légère augmentation de l'expression, et le rouge une augmentation de l'expression du gène.

Conclusion

Nous avons développé un système de co-culture de cellules tumorales et de CTL humains pour étudier la réaction des cellules tumorales à une attaque du système immunitaire. Un traitement avec des CTL spécifiques ou avec des cytokines TNF α /IFN γ influence significativement l'expression de nombreux gènes. A l'inverse, des CTL non-spécifiques n'induisent pas de tels changements. Nous nous concentrons à présent sur des études fonctionnelles de gènes identifiés lors des études d'expression mentionnées ci-dessus.

Notre hypothèse est que les CTL anti-tumoraux pourraient induire la production de facteurs pro-tumoraux chez les cellules tumorales, ce qui permettrait l'expansion de la tumeur, par exemple en stimulant les cellules du micro-environnement et en mobilisant de nouvelles cellules impliquées dans la croissance tumorale.

L'aboutissement de ce projet va contribuer à améliorer notre connaissance des mécanismes en lien avec le système immunitaire permettant la progression du cancer, et pourrait aider à développer ou améliorer des stratégies thérapeutiques.

BOURSES

BOURSE « CANCER ET IMMUNOLOGIE »

Stress du réticulum endoplasmique et cancer

Cette "bourse ISREC" d'une valeur de CHF 40'000.- par année a été attribuée à Bojan Bujisic en janvier 2012 pour une durée de quatre ans

Bojan Bujisic effectue ses travaux dans les laboratoires du Professeur Fabio Martinon (département de Biochimie, UNIL)

Introduction

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organite essentiel qui détecte les perturbations des fonctions cellulaires et rétablit l'homéostasie via l'induction d'une réponse appelée UPR (unfolded protein response). Des perturbations comme l'hypoxie, la privation en nutriments ou des variations de pH, qui sont couramment présentes dans la masse tumorale, activent les voies cellulaires de la réponse au stress, y compris l'UPR. En fonction de la gravité du « stress », cette réponse peut déclencher des signaux de survie ou d'apoptose. Il est donc essentiel de comprendre comment la modulation de l'UPR modifie l'équilibre entre ces deux processus et contribue à la cancérogenèse dans différents types de cellules. Deux études indépendantes ont récemment établi que la diminution de la protéine XBP1, un membre de la voie de signalisation UPR, rend les cellules du myélome multiple moins susceptibles au Bortezomib (1, 2). Il a également été démontré que la surexpression de XBP1 est suffisante pour promouvoir l'apparition de syndromes de type myélome multiple chez la souris (3). De plus, l'analyse comparative de l'expression génique de deux types spécifiques de lymphome B (diffuse large B cell lymphoma, DLBCL), le lymphome de type « cellules B activées » (activated B-cell-like lymphoma, ABC) et le lymphome de type « cellules B dérivées des centres germinaux » (germinal center B cell lymphoma, GCB), a démontré que les gènes cibles d'XBP1 sont plus exprimés dans les lymphomes ABC. Dans l'ensemble, ces observations suggèrent que le facteur de transcription XBP1 jouerait un rôle non seulement dans la progression et l'agressivité des lymphomes de type B mais également dans la réponse au traitement de ce type de cancer.

Mon projet a pour but de comprendre le rôle des voies de signalisation de l'UPR dans la tumorigenèse et se concentre dans un premier temps sur le rôle de la branche IRE1-XBP1 dans les lymphomes B de type DLBCL.

Résultats obtenus précédemment

Dans le rapport de première année, j'ai démontré que le senseur du stress du réticulum endoplasmique IRE1 est réprimé dans les lymphomes de type cellules B du centre germinal comparé aux lymphomes de type cellules B activées (ABC). Par conséquent, l'expression d'XBP1, le facteur de transcription directement induit par l'activation d'IRE1, est particulièrement faible dans ce type de cellules après traitement par des molécules induisant spécifiquement les voies de l'UPR.

Résultats obtenus durant la deuxième année : A l'inverse de la différence d'expression observée pour la voie IRE1-XBP1, le fonctionnement de la branche de signalisation PERK-ATF4 semble être similaire dans les deux sous-types de lymphome B, ABC et GCB. Ces données montrent que les lignées cellulaires GCB n'ont pas de déficience générale dans la plate-forme de signalisation du RE et dans la réponse au stress, mais une diminution spécifique de la branche de signalisation IRE1-XBP1. Ces observations nous ont incités à reconstituer des lignées de cellules GCB avec des vecteurs inductibles codant pour les protéines IRE1 et XBP1, afin de définir le rôle de ces deux protéines dans la tumorigenèse de ce type de lymphome.

Résultats obtenus lors de la troisième année : Nos résultats indiquent que l'expression prolongée de XBP1 dans les cellules GCB réduit la survie des cellules tumorales *in vitro*, et suggèrent donc que la déficience de la branche IRE1-XBP1 pourrait être une propriété acquise par les GCB DLBCL, de manière à faciliter la croissance tumorale. En considérant le rôle connu de XBP1 dans la promotion de la différenciation des cellules plasmiques, nous avons émis l'hypothèse que la répression de la voie IRE1-XBP1 dans les cellules GCB DLBCL pourrait contribuer à bloquer la différenciation de ce type de tumeur au stade de cellules B du centre germinal.

D'autre part, l'inhibition spécifique de la voie de signalisation IRE1-XBP1 implique que, dans les cellules de type GCB, la réponse au stress du RE ne passe plus que par la voie de signalisation PERK-ATF4. La cascade de signalisation PERK-ATF4 est une autre branche de l'UPR qui est activée lors de conditions de stress (Figure 1). Nous avons donc testé la capacité des cellules GCB à survivre au stress en présence d'un inhibiteur spécifique de la protéine kinase PERK. Nous avons traité en parallèle des cellules ABC et GCB avec des molécules induisant un stress du réticulum endoplasmique en présence ou en absence d'inhibiteur de PERK. Nos résultats indiquent que l'inhibition de la signalisation PERK-ATF4 rend les cellules GCB hypersensibles au stress du réticulum endoplasmique, alors que le même traitement n'affecte pas la survie des cellules ABC.

Les données obtenues jusqu'ici indiquent que la déficience en IRE1 est caractéristique des tumeurs de type GCB et pourrait contribuer à leur sensibilité accrue aux molécules induisant le stress du réticulum endoplasmique. De plus, l'inhibition de la voie IRE1-XBP1 rend les cellules GCB dépendantes de la voie PERK-ATF4 lors de conditions de stress du réticulum endoplasmique. Dans l'ensemble, ces résultats pourraient permettre le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblées pour le sous-type GCB du lymphome.

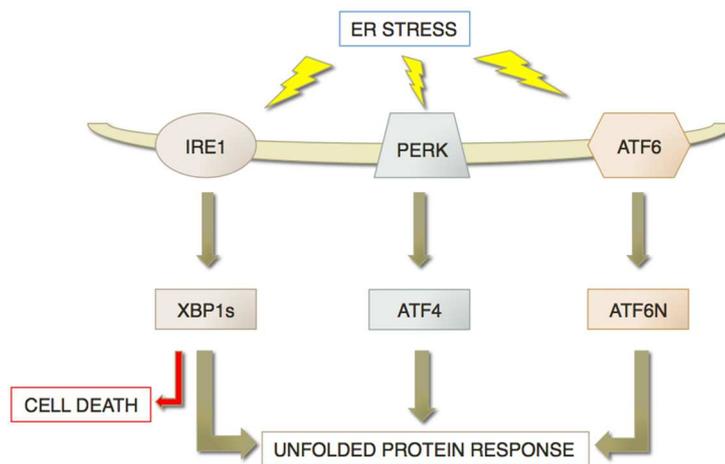


Figure 1 : La plateforme de signalisation du stress du réticulum endoplasmique

Le stress au sein du RE est détecté par les protéines senseur IRE1, PERK et ATF6, dont l'activation déclenche trois cascades de signalisation qui mènent à une réponse adaptative appelée UPR (unfolded protein response), réduisant ainsi le stress du RE et permettant de restaurer l'homéostasie cellulaire. La dérégulation des voies de signalisation du RE a été observée dans différents types de tumeurs. Le rôle d'XBP1 et de l'UPR dans le lymphome B DLBCL, un type de cancer des cellules B représentant environ 40% des patients atteints de lymphomes, n'a pas encore été étudié. Mon projet a pour but de comprendre le rôle des voies de signalisation de l'UPR dans les tumeurs et se concentre tout d'abord sur le rôle d'XBP1 dans les DLBCL. Mes résultats démontrent que la voie IRE1-XBP1 est spécifiquement réprimée dans le sous-type GCB de DLBCL, et que la reconstitution de l'expression d'XBP1 dans ces cellules mène à la mort cellulaire.

Références

1. Hong, S.Y., and Hagen, T. (2013). Multiple myeloma Leu167Ile (c.499C>A) mutation prevents XBP1 mRNA splicing. *Br. J. Haematol.* 161, 898-901.
2. Leung-Hagesteijn, C., Erdmann, N., Cheung, G., Keats, J.J., Stewart, A.K., Reece, D.E., Chung, K.C., and Tiedemann, R.E. (2013). Xbp1s-negative tumor B cells and pre-plasmablasts mediate therapeutic proteasome inhibitor resistance in multiple myeloma. *Cancer Cell* 24, 289-304.
3. Carrasco, D.R., Sukhdeo, K., Protopopova, M., Sinha, R., Enos, M., Carrasco, D.E., Zheng, M., Mani, M., Henderson, J., Pinkus, G.S., et al. (2007). The differentiation and stress response factor XBP-1 drives multiple myeloma pathogenesis. *Cancer Cell* 11, 349-360.
4. Kawabata, S., Gills, J.J., Mercado-Matos, J.R., Lopiccolo, J., Wilson, W., 3rd, Hollander, M.C., and Dennis, P.A. (2012). Synergistic effects of nelfinavir and bortezomib on proteotoxic death of NSCLC and multiple myeloma cells. *Cell Death Dis* 3:e353.

BOURSES

BOURSE « APPROCHES MOLÉCULAIRES DU VIVANT »

Contrôle spatiotemporel des proprotéines convertases et impact sur la signalisation par les facteurs de croissance

Cette « bourse ISREC » d'une valeur de CHF 80'000.- par année a été attribuée en janvier 2013 à Pierpaolo Ginefra pour une durée de quatre ans

Pierpaolo Ginefra effectue ses travaux dans les laboratoires du Professeur Daniel Constam (EPFL/SV/ISREC)

Introduction

La sécrétion d'enzymes de type subtilisine/kexine, appartenant à la famille des proprotéines convertases (PCSK), active ou inhibe diverses hormones, facteurs de croissance et molécules d'adhésion cellulaire, par l'intermédiaire du clivage endoprotéolytique de leurs précurseurs, après reconnaissance de motifs spécifiques. Cependant, les rôles physiologiques de ces enzymes dans de nombreux tissus et dans diverses pathologies comme le cancer demeurent mal définis. Ceci réside en partie dans la limitation des approches expérimentales conventionnelles à distinguer clairement la redondance fonctionnelle entre chacune des activités PCSK. Nombre de cancers les plus communs et les plus mortels (p. ex. le cancer des poumons et les mélanomes) produisent des niveaux élevés de plusieurs PCSK. Des altérations de leur abondance et de l'activité de substrats critiques, comme TGF β ou Notch, sont généralement corrélées à la progression tumorale, à l'invasivité et à la croissance métastatique. Les activités PCSK sont également sur-régulées à basse pression en oxygène, conduisant à la formation de vaisseaux sanguins qui fournissent aux cellules tumorales des nutriments essentiels et de l'oxygène. Elles sont aussi impliquées dans la spécification des lymphocytes régulateurs responsables de la suppression de l'immunité anti-tumorale. Cependant, afin de contrecarrer ces capacités des cellules cancéreuses, une question majeure à aborder est à quel moment et à quel endroit, dans un tissu donné et dans un compartiment cellulaire spécifique, chacun des membres de la famille PCSK est actif et capable de métaboliser une catégorie potentielle de substrats spécifiques. Apporter une réponse à ces questions sera crucial pour développer des outils thérapeutiques permettant de cibler préférentiellement les fonctions pathogènes des PCSK et de diminuer la toxicité des inhibiteurs de PCSK systémiques.

Résultats

Au cours de la première année, j'ai utilisé le bio-senseur CLIPv4, préalablement décrit par le laboratoire d'accueil, afin de quantifier l'activité des PCSK dans des compartiments cellulaires spécifiques de cellules saines ou cancéreuses. Les bio-senseurs sont composés de deux fluorophores reliés entre eux par une séquence spécifiquement clivée par les membres les plus fréquemment exprimés de la famille des PCSK. Afin de cibler ces constructions au sein de compartiments cellulaires spécifiques, nous les avons fusionnées avec une série de peptides signaux (Fig. 1). Les deux fluorophores ont été choisis pour leur capacité à réaliser le transfert d'énergie par résonance en fluorescence (FRET). La mesure du FRET nous renseignera sur la quantité de bio-senseur clivée. Les valeurs hautes de FRET correspondent à un état non-clivé, alors que les valeurs basses indiquent une activité protéolytique par des proprotéines convertases. Jusqu'à présent, les PCSK étaient connues pour cliver la majorité de leurs substrats dans le réseau trans-golgien. En revanche, nos analyses sur des cultures cellulaires de variants CLIPv4 spécifiques à un compartiment suggèrent que les PCSK présentent une activité plus forte dans les compartiments post-golgiens. Afin de quantifier l'activité des PCSK au niveau des différents compartiments cellulaires, j'ai mesuré le rendement du FRET de nos variants dans des cultures de la lignée de cellules de mélanome murin B16F1 qui expriment de façon endogène les membres Furin et PC7 de la famille des PCSK. Afin de déterminer le signal FRET maximal mesurable dans chaque compartiment cellulaire, j'ai mesuré le rendement FRET à l'aide des contrôles non-clivables mCLIPv4.

Ces valeurs ont ensuite été utilisées pour normaliser les valeurs de FRET du CLIPv4 clivable. Par exemple, dans les endosomes tardifs, j'ai ainsi démontré que, comparé à mCLIPv4, CLIPv4 perd 60-70% de rendement FRET. Pour déterminer laquelle des deux PCSK présentes est responsable du clivage, j'ai procédé à une analyse similaire dans des cellules B16F1-F2 ou B16F1-G7 préalablement traitées avec des sgRNA spécifiques ainsi que CRISPR/Cas9, afin de muter respectivement PC7 ou Furin. Alors que le clivage de CLIPv4 était similaire dans les cellules parentales B16F1 et le mutant PC7 du sous-clone B16F1-F2, les cellules B16F1-G7, qui n'expriment pas Furin, ont présenté une nette hausse de rendement du FRET, indiquant que le clivage du bio-senseur dans les endosomes tardifs serait effectué par Furin (Fig. 2). Cette étude démontre que notre bio-senseur CLIPv4 permet de quantifier l'activité des PCSK en utilisant le phénomène de FRET, et qu'il permet de tracer l'activité de ces PCSK au niveau des compartiments cellulaires.

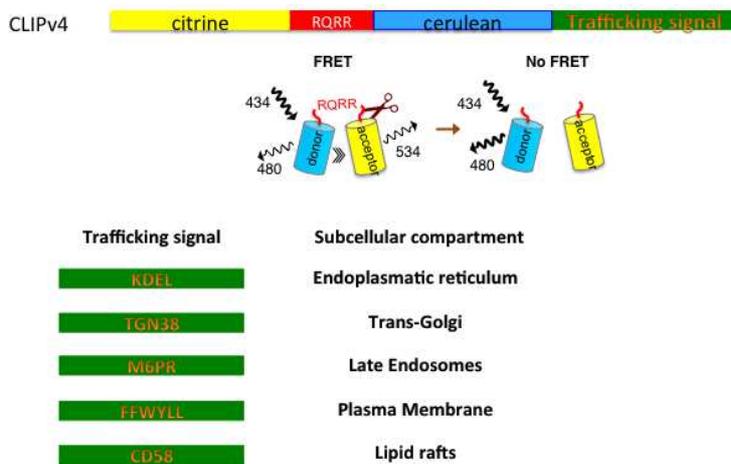
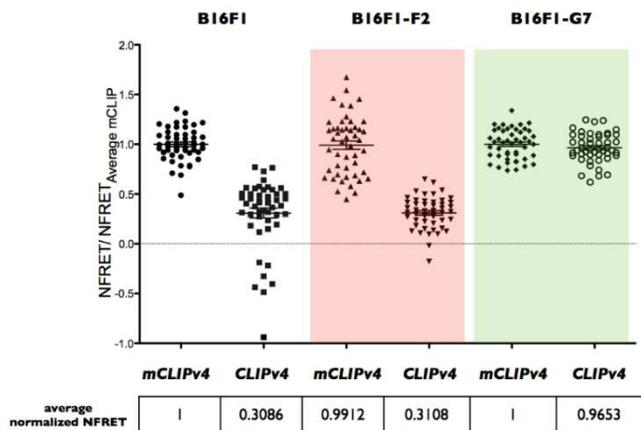


Figure 1 : Conception des variants de bio-senseurs CLIP. Le clivage du lien RQRR entre le donneur et l'accepteur inhibe le FRET. Le tableau indique les peptides signaux de trafic utilisés pour cibler les bio-senseurs au niveau des compartiments cellulaires d'intérêt. La séquence KDEL pour le réticulum endoplasmique, la séquence TGN38 pour le réseau trans-golgien (domaine TM et queue cytosolique de la protéine humaine TGN38), la séquence M6PR pour les endosomes tardifs (domaine TM et queue cytosolique du récepteur bovin mannose-6-phosphate dépendant du cation), la séquence FFWYLL pour la membrane plasmique (domaine TM mutant et queue cytosolique du récepteur bovin mannose-6-phosphate dépendant du cation) et la séquence CD58 (ancrage GPI de la protéine humaine CD58) pour les radeaux lipidiques.

Figure 2 : Rendements FRET du CLIPv4 et de mutants correspondants mCLIPv4 dans les endosomes tardifs de cultures B16F1, mesurés par émission sensibilisée.

Le rendement FRET normalisé (NFRET) a été déterminé comme décrit précédemment (Xia et al., 2001). Les valeurs moyennes normalisées pour mCLIPv4 et CLIPv4 sont indiquées dans le tableau.



Références

- Lalou, C., Scamuffa, N., Mourah, S., Plassa, F., Podgorniak, M. P., Soufir, N., Dumaz, N., Calvo, F., Basset-Seguin, N. and Khatib, A. M. (2010). Inhibition of the proprotein convertases represses the invasiveness of human primary melanoma cells with altered p53, CDKN2A and N-Ras genes. *PLoS One* 5, e9992.
- Seidah, N. G. and Prat, A. (2012). The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases. *Nature Reviews Drug Discovery* 11, 367-83.
- Xia, Z. P. and Y. H. Liu (2001). Reliable and global measurement of fluorescence resonance energy transfer using fluorescence microscopes. *Biophysical Journal* 81(4): 2395-2402.

BOURSES

BOURSE « APPROCHES MOLÉCULAIRES DU VIVANT »

Rôle de la transition épithélio-mésenchymateuse dans le cancer du poumon non à petites cellules

Cette « bourse ISREC » d'une valeur de CHF 80'000.- par année a été attribuée à Svenja Groeneveld en août 2013 pour une durée de quatre ans

Svenja Groeneveld effectue ses travaux dans les laboratoires du Professeur Etienne Meylan (EPFL/SV/ISREC)

Introduction

Le cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC) est la cause principale de mortalité par cancer dans le monde. La transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) est un programme de l'embryogenèse souvent réactivé dans le cancer et favorisant la progression tumorale. L'objectif de mon étude est d'améliorer la compréhension de la contribution de la TEM au développement et à la progression tumorale. Le rôle de facteurs de transcription (FT) capables d'induire l'EMT, ZEB1 et Snail, est examiné plus spécifiquement. Un aspect important de ce travail est l'enquête d'une éventuelle connexion entre la TEM et le métabolisme du glucose d'une cellule tumorale.

Résultats*L'étude de la TEM dans la cellule*

Pour les expériences en laboratoire, nous utilisons des lignées cellulaires provenant de patients souffrant d'un NSCLC. Dix de ces lignées ont été examinées quant à leurs caractéristiques épithéliales et mésenchymateuses et classifiées en fonction de leur statuts épithélial ou mésenchymateux. J'ai maintenant généré des lignées cellulaires dans lesquelles l'expression de ZEB1 ou de Snail peut être induite en ajoutant un antibiotique au milieu de culture, ce qui conduit à une TEM des cellules. Ce faisant, nous sommes en mesure d'étudier les effets des FT individuels et de comparer leurs fonctions.

L'étude de la TEM dans la souris

Afin d'examiner la TEM dans des tumeurs du poumon de souris, j'utilise un système sophistiqué, comparable à celui décrit pour les expériences sur les lignées cellulaires. L'expression de ZEB1 ou Snail peut être induite directement dans les tumeurs des souris lors de l'initiation ou du développement du cancer.

Métabolisme du glucose

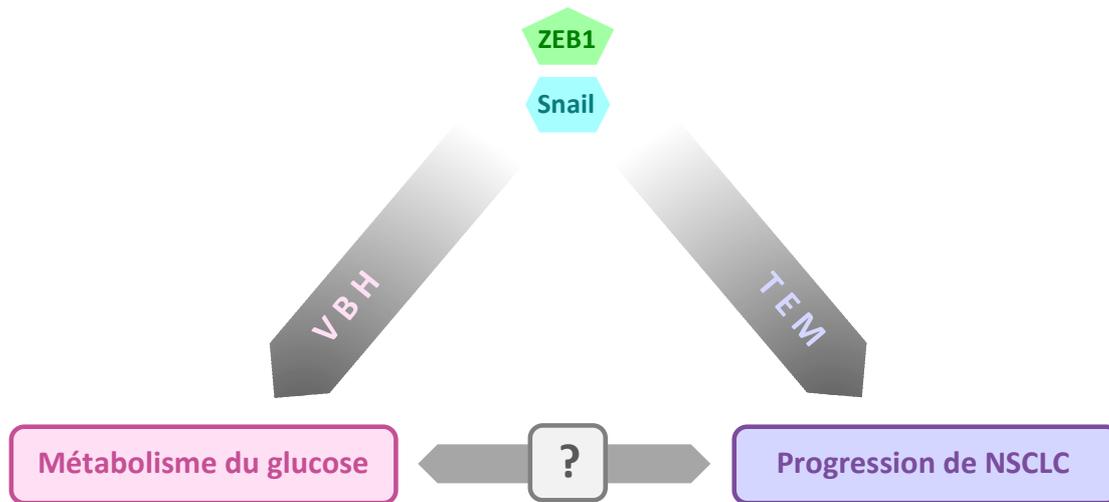
Notre équipe a récemment découvert une connexion entre le métabolisme du glucose et la TEM. Nous avons pu démontrer que le transporteur neuronal de glucose GLUT3 fait partie du programme de TEM réactivé dans le NSCLC humain, et qu'une forte expression de GLUT3 est associée à un mauvais pronostic. Le FT ZEB1 active directement le gène GLUT3, et en conséquence, augmente l'expression de GLUT3. Ces résultats font partie d'une publication actuelle (Masin et al., 2014) dont je suis co-auteur.

La voie de biosynthèse des hexosamines

Afin d'identifier d'autres acteurs métaboliques du programme de TEM, nous avons analysé des données d'expression génique de patients NSCLC. Nous avons identifié un autre gène métabolique, codant pour la glutamine-fructose-6-phosphate-AMIDOtransférase (GFPT2), une enzyme importante de la voie de biosynthèse des hexosamines (VBH). La VBH est une voie métabolique produisant un substrat pour des modifications de protéines indispensables à la transmission des signaux au sein de la cellule. Cette modification peut, entre autres, stabiliser le FT Snail et ainsi contribuer à une TEM. Comme pour GLUT3, nous avons constaté une relation entre une expression élevée de GFPT2 et un mauvais pronostic. En outre, l'induction de ZEB1 ou Snail résulte en une augmentation de GFPT2.

Résumé

Durant ma première année, j'ai développé deux systèmes complémentaires permettant l'étude de la TEM tant dans des lignées cellulaires humaines NSCLC que dans un modèle murin de NSCLC. J'ai identifié GFPT2 comme lien possible entre le métabolisme du glucose et la TEM. Les résultats préliminaires indiquent que GFPT2 et la VBH pourraient être impliquées dans la TEM. Il nous semble pertinent de continuer l'étude de ces relations dans le contexte de la progression de NSCLC.



Hypothèse de travail

Les FT ZEB1 et Snail sont des inducteurs connus de la TEM. Ce faisant, ils contribuent probablement à la progression du cancer du poumon. En outre, les FT influencent éventuellement le métabolisme du glucose de la cellule tumorale, par exemple à travers l'activation de la VBH. Il est possible que les effets de la TEM sur la progression du cancer et le métabolisme du glucose ne soient pas des processus isolés. Il est au contraire raisonnable de penser qu'ils sont liés et s'influencent réciproquement. Notre objectif est d'élucider ces relations intrigantes afin de mieux comprendre les mécanismes de la progression tumorale.

Référence

Masin, M., Vazquez, J., Rossi, S., Groeneveld, S., Samson, N., Schwalie, P.C., Deplancke, B., Frawley, L.E., Gouttenoire, J., Moradpour, D., *et al.* (2014). GLUT3 is induced during epithelial-mesenchymal transition and promotes tumor cell proliferation in non-small cell lung cancer. *Cancer & Metabolism* 2:11. DOI: 10.1186/2049-3002-2-11 / URL: <http://www.cancerandmetabolism.com/content/2/1/11>)

CHAIRES

CHAIRE ISREC « ONCOLOGIE TRANSLATIONNELLE »

Mécanismes de signalisation et nouvelles stratégies de traitement pour les maladies hématologiques

Cette chaire dotée de CHF 500'000.- par an pour une durée de six ans a été accordée en mars 2011

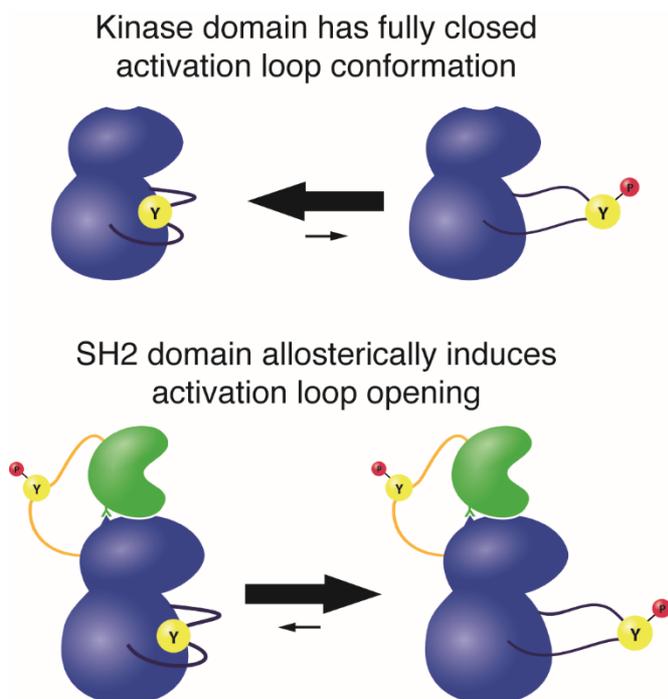
Elle a été attribuée au groupe de recherche du **Prof. Oliver Hantschel** (EPFL/SV/ISREC)

Préambule

Dans les cellules tumorales des patients cancéreux se trouve une multitude de modifications de l'information génétique par rapport aux cellules saines. Dans la plupart des cas, ces modifications causent une sous- ou surproduction de certaines protéines ou bien une altération de leur structure.

De nombreuses protéines à l'origine de cancers sont des enzymes pouvant transmettre des groupes phosphate à d'autres protéines et ainsi transmettre le signal responsable de la progression du cancer. Ces enzymes sont des kinases qui fonctionnent comme interrupteurs moléculaires et qui sont naturellement inactives dans les cellules normales. Dans les cellules tumorales, en revanche, elles sont susceptibles d'être activées de manière permanente suite à des modifications génétiques. 25 médicaments bloquant cet état actif des kinases et pouvant par conséquent freiner la progression tumorale ont été développés par l'industrie pharmaceutique au cours des dix dernières années. Outre les anticorps monoclonaux, ces inhibiteurs de kinases sont aujourd'hui les exemples les plus importants de thérapie ciblée.

Malheureusement, le succès d'une telle thérapie est souvent de courte durée, parce que des modifications supplémentaires des kinases apparaissent au cours du traitement et peuvent diminuer ou même empêcher le succès de la thérapie. On parle alors d'une résistance de la kinase à la thérapie.



C'est la raison pour laquelle nous essayons de trouver des alternatives permettant de limiter l'activité élevée des kinases dans les cellules tumorales. Notre axe de recherche étudie une classe particulière de kinases comptant environ 30 membres, la plupart associés à certains types de leucémies et de tumeurs d'organes internes. Nos résultats indiquent que certaines de ces kinases sont activées par un mécanisme alternatif agissant indépendamment du point d'attaque des thérapies actuelles. Les modifications de cette deuxième position entraînent la régulation erronée de l'activité de la kinase. Notre objectif est de développer de nouvelles stratégies contre ce mécanisme alternatif, dans le but de limiter l'apparition de résistances et d'assurer une thérapie plus efficace.

Le domaine kinase de la protéine BCR-ABL (en bleu) adopte le plus souvent une conformation inactive de la boucle d'activation (figure du haut). La formation de l'interface SH2-kinase fait basculer l'équilibre vers une conformation principalement active de la boucle d'activation (figure du bas).

Résultats

La kinase pour laquelle nous avons découvert ce mécanisme alternatif s'appelle BCR-ABL. Cette kinase très active mène à la transformation de cellules souches sanguines en cellules leucémiques et ainsi à l'apparition de la leucémie myéloïde chronique. Depuis dix ans, les patients sont traités avec l'inhibiteur spécifique imatinib (nom commercial : Gleevec, fabriqué par Novartis). Chez certains patients, l'apparition de résistances provoque une progression de la maladie.

Au cours des deux dernières années, nous avons découvert les principes moléculaires du mécanisme de régulation alternatif de BCR-ABL. Nous avons purifié certains domaines de BCR-ABL et caractérisé leurs propriétés biochimiques. Ceci a mené à la découverte de différences spécifiques entre la structure tridimensionnelle de la forme hyperactive (cancérogène) et de la forme moins active (non-cancérogène) de la protéine.

Nos résultats ont été publiés récemment dans le journal spécialisé Nature Communications. (Lamontanara *et al.*, 'The SH2 domain of ABL kinases regulates kinase autophosphorylation by controlling activation loop accessibility', Nat. Commun. 5, 5470)

Au cours de ce projet, nous développons des méthodes qui nous permettront de sélectionner de nouveaux inhibiteurs contre BCR-ABL, spécifiques pour le mécanisme de régulation alternatif. Une combinaison de ce nouveau médicament avec imatinib pourrait aboutir à une thérapie plus efficace.

Avec les résultats de notre recherche, nous espérons pouvoir contribuer au développement de thérapies efficaces pour améliorer à long terme la qualité de vie de ces patients.

CHAIRE ISREC « ONCOLOGIE FONDAMENTALE »

Immunothérapie moléculaire du cancer et ingénierie immunitaire

Cette chaire dotée de CHF 500'000.- par an pour une durée de six ans a été accordée en juin 2013

Elle a été attribuée à un groupe de recherche UNIL/CHUV
Professeur « assistant tenure track » - nomination en cours
Les premiers résultats seront disponibles en 2015

CHAIRES

CHAIRE ISREC « ONCOLOGIE TRANSLATIONNELLE »

Décodage de la génétique du lymphome pour le développement de nouvelles thérapies

Cette chaire dotée de CHF 500'000.- par an pour une durée de six ans a été accordée en novembre 2014

Elle a été attribuée au groupe de recherche du **Prof. Elisa Oricchio** (EPFL/SV/ISREC)

Le laboratoire Oricchio à l'ISREC-EPFL a été inauguré en novembre 2014. Le soutien de la Fondation ISREC m'a permis de recruter un technicien et un postdoctorant possédant de l'expérience dans le domaine de la biologie du cancer, et d'entamer nos travaux de recherche.

Introduction

La recherche dans notre laboratoire se concentre sur la génétique du lymphome et sur son application à de nouvelles thérapies. Le lymphome est une maladie hétérogène caractérisée par de nombreuses altérations génomiques. Notre but est de définir le rôle fonctionnel des lésions génétiques récurrentes au cours de la lymphomagenèse. Nous combinerons des analyses génomiques de tumeurs humaines avec des études fonctionnelles *in vivo*. Nous nous servirons également de modèles mosaïques de lymphomes pour annoter fonctionnellement les gènes intéressants identifiés au cours des analyses génomiques et pour effectuer des études de traitement pré-cliniques.

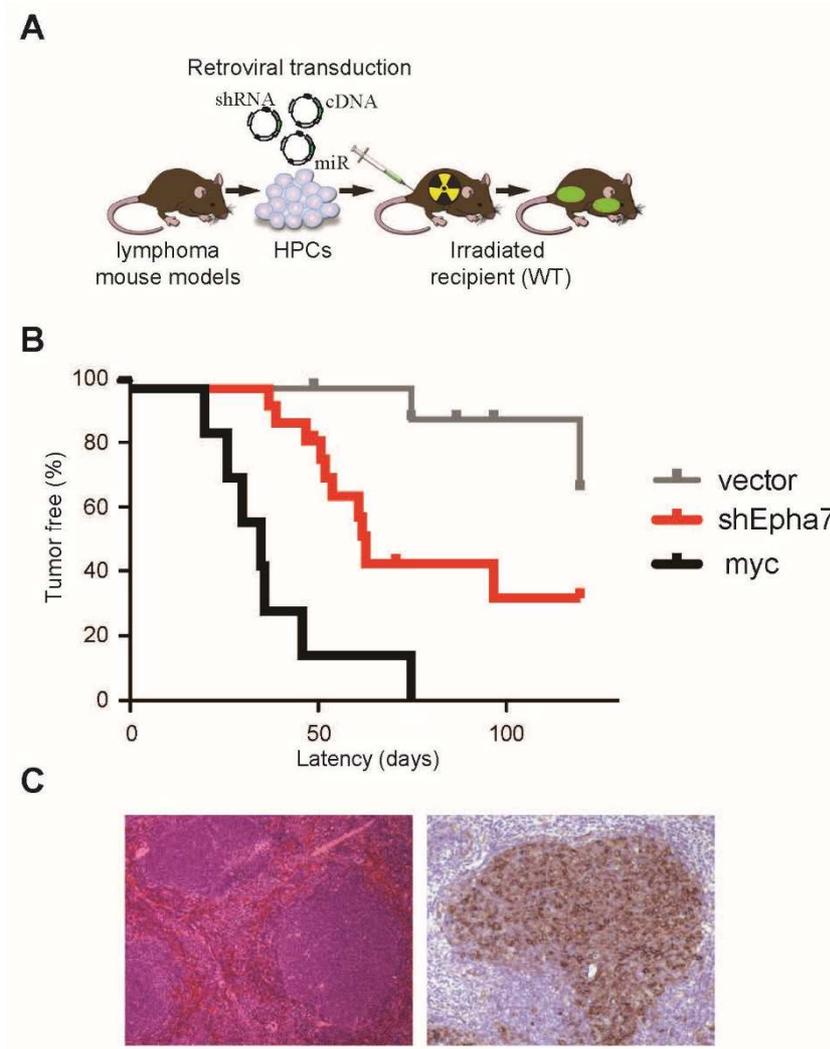
Description détaillée du projet

Dans un premier temps, nous analyserons par séquençage d'ARN des échantillons provenant de patients atteints d'un lymphome ; ceci d'une part dans le but de mesurer quantitativement les variations dans l'expression des gènes liées au cancer et les taux en isoformes spécifiques, et d'autre part dans l'intention d'identifier d'éventuelles nouvelles fusions de gènes. Nous combinerons ces données avec des mutations et des aberrations chromosomales, afin d'obtenir des informations sans précédent dans le domaine de la génomique du lymphome. Nous compléterons les analyses génomiques par des criblages fonctionnels, afin de définir la contribution phénotypique de ces altérations à la lymphomagenèse. Cette étape est indispensable au développement d'études fonctionnelles *in vivo*.

Nous nous servirons ensuite de modèles murins génétiquement modifiés de lymphome pour étudier la génétique et la pathologie de cette maladie. Ces modèles murins ont conservé des caractéristiques humaines essentielles que nous nous proposons d'exploiter, dans le but de déterminer l'impact d'altérations génétiques récurrentes sur le déclenchement et la transformation du lymphome *in vivo*.

Notre objectif ultime consiste en l'application de nos études génétiques et biologiques au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Les altérations génomiques fréquentes sont susceptibles d'influencer la réponse du patient aux thérapies actuelles. Des gènes ayant subi une mutation sont à même de promouvoir des mécanismes de résistance, et il est possible de bloquer leur activité moyennant des inhibiteurs sélectifs

Pour tester nos hypothèses, nous recourons à des systèmes expérimentaux strictement contrôlés, semblables aux essais cliniques élaborés dans un contexte physiologique. Nous testerons des traitements combinés dans des tumeurs génétiquement définies. Nous comparerons directement l'impact de diverses lésions génétiques sur la thérapie. Et nous mesurerons l'effet de l'hétérogénéité intrinsèque à la tumeur sur le traitement.



Etudes fonctionnelles *in vivo* moyennant un modèle murin de lymphome

(A) Schéma de la stratégie de transfert adoptif nous permettant de définir rapidement le rôle de lésions génétiques dans la lymphomagenèse et la progression *in vivo*. (B) Données représentatives indiquant la manière dont les lésions génétiques distinctes affectent la latence tumorale *in vivo* (myc = c-Myc, shEpha7 = petit ARN en épingle à cheveux contre Epha7, contrôle vecteur). (C) Histologies illustratives de lymphomes murins. Coloration HE (à gauche) et pour la PNA (à droite).

Publications récentes

1. Oricchio E, Nanjangud G, Wolfe AL, Schatz JH, Mavrakis KJ, Jiang M, Liu X, Bruno J, Heguy A, Olshen AB, Socci ND, Teruya-Feldstein J, Weis-Garcia F, Tam W, Shaknovich R, Melnick A, Himanen JP, Chaganti R.S.K., and Wendel HG. Eph- Receptor A7 is a soluble tumor suppressor in follicular lymphoma. *Cell* 147:3 554-564 (2011).
2. Oricchio E, Ciriello G, Schatz JH, Jiang M, Heguy A, Viale A, de Stanchina E, Teruya-Feldstein J, Sander C, Wayne T, Seshan VE, Chaganti RSK Wendel HG. Frequent disruption of the RB pathway in indolent follicular lymphoma suggests a new combination therapy. *J Exp. Med.* (2014) Jun 30; 211(7):1379-91.
3. Oricchio E, Papapetrou EP, Lafaille F, Ganat YM, Kriks S, Mark WH, Teruya-Feldstein J, Huse JT, Reuter V, Sadelain M, Studer L, Wendel HG. "A cell engineering strategy to enhance the safety of stem cell therapies". *Cell Report* (2014).

FONDS

FONDS « RECHERCHE TRANSLATIONNELLE – GLIOBLASTOME »

Cellules souches embryonnaires pour l'étude des tumeurs cérébrales

Ce « fonds affecté », provenant d'une donation privée d'une valeur de CHF 350'000.- a été accordé en juin 2011 pour une durée de trois ans

Il a été attribué au **Dr Olivier Preynat-Seauve** (laboratoire d'immuno-hématologie, Hôpital Universitaire de Genève)

Introduction

Les microARN (ou miARN) sont une cible potentielle pour le développement de nouveaux traitements contre les cancers. Ce sont de petites molécules produites par les cellules pouvant réguler de nombreux gènes, donc de nombreux processus cellulaires, dont la progression tumorale. Par ailleurs, pour progresser dans la compréhension des tumeurs cérébrales dont le glioblastome, des modèles d'étude sont nécessaires. Nous avons, au cours de ce projet, développé un modèle cellulaire d'étude des glioblastomes, tumeurs cérébrales au sombre pronostic. Ce modèle est basé sur l'utilisation de cellules souches embryonnaires et consiste en la production *in vitro* de tissus nerveux humains associés à une tumeur mimant celle observée dans le cerveau malade. Un tissu mixte, composé de cellules nerveuses saines et de cellules cancéreuses, est ainsi généré, et présente de nombreuses similitudes avec les lésions de la maladie observées chez les patients. Nous avons exploité ce système pour étudier *in vitro* l'expression des miARN dans la maladie. Les objectifs ont été (i) l'étude des miARN induits par l'interaction tumeur/tissu hôte, et (ii) l'identification de miARN strictement spécifiques au glioblastome.

Travail accompli

Via l'utilisation de ce modèle cellulaire, nous avons identifié des miARN qui pourraient interférer avec la progression de la maladie.

Lorsque la tumeur interagit avec son tissu hôte, nous avons observé que certains miARN sont induits ou réprimés. Par l'utilisation concomitante de bases de données (Human Cancer Genome Atlas), nous démontrons que 31 de ces miARN (soit 6%) sont statistiquement et significativement corrélés à la survie des patients. Parmi ces miARN, les molécules suivantes ont été sélectionnées comme étant les plus prometteuses : miR-494, -892a, -1293 et -340. En effet :

- miR-494 et -1293 sont produits uniquement lorsque la tumeur interagit avec le tissu hôte (et ne sont pas produits lorsque ces tissus sont "séparés").
- miR-892a, -1293 et -340 n'ont pas encore été décrits dans le glioblastome.
- miR-340 est réprimé par l'interaction tumeur/tissu hôte et corrélé positivement à la survie des patients.

L'introduction expérimentale de ces miARN dans des cellules de glioblastome a révélé qu'ils ralentissent l'activité et la progression de ces cellules.

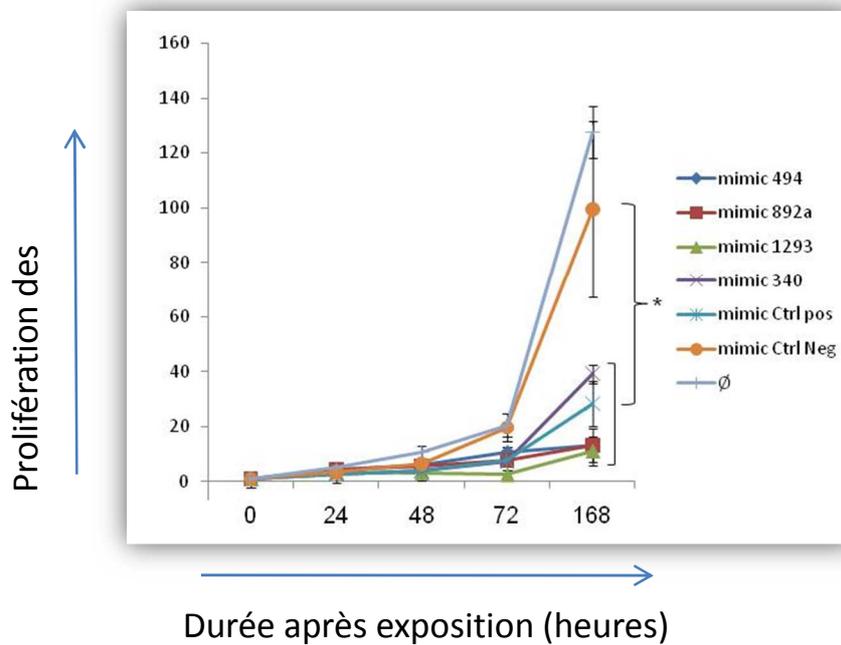
Conclusion globale sur le projet

Le projet initial consistait à développer un modèle tissulaire d'étude du glioblastome. L'avancée significative de ce développement a conduit, outre les objectifs initiaux, à l'identification de deux phénomènes d'intérêt qui ont permis de faire progresser la compréhension de la maladie :

- (i) l'exclusion d'une possible étiologie virale du glioblastome, sujet largement débattu par la communauté scientifique ;
- (ii) l'identification de miARN spécifiquement induits par l'interaction tumeur/tissu hôte et possiblement biologiquement actifs.

Deux articles décrivant ces observations ont été publiés dans des journaux internationaux :
 Cosset E, Petty TJ, Dutoit V, Cordey S, Padioleau I, Otten-Hernandez P, Farinelli L, Kaiser L, Bruyere-Cerdan P, Tirefort D, Amar El-Dusouqui S, Nayernia S, Krause KH, Zdobnov EM, Dietrich PY, Rigal E, Preynat-Seauve O. Comprehensive metagenomic analysis of glioblastoma reveals absence of known virus despite antiviral-like type I interferon gene response. *Int J Cancer*. 2013 Dec 17.

Nayernia Z, Turchi L, Cosset E, Peterson H, Dutoit V, Dietrich PY, Tirefort D, Chneiweiss H, Lobrinus JA, Krause KH, Virolle T, Preynat-Seauve O. The relationship between brain tumor cell invasion of engineered neural tissues and *in vivo* features of glioblastoma. *Biomaterials*. 2013:8279-90.



Prolifération de cellules de glioblastome après exposition aux miARN -494, -892a, -1293 et -340. ∅ indique les cellules non-exposées. Neg indique les cellules exposées à un miARN contrôle sans activité biologique. Pos indique les cellules exposées à un miARN contrôle connu pour diminuer la prolifération cellulaire.

FONDS

FONDS « RECHERCHE TRANSLATIONNELLE – SARCOME »

Les infiltrations tumorales sont des facteurs pronostiques dans les tumeurs stromales gastro-intestinales localisées

Collaboration entre le CHUV, Lausanne et l'IGR, Paris

Ce « fonds affecté », provenant d'une donation privée d'une valeur de CHF 200'000.- par année, a été attribué en janvier 2012 pour cinq ans

Unité INSERM U1015 et Centre d'Investigations Cliniques IGR/Curie. D

Directeur : **Prof. Laurence Zitvogel**, IGR - Institut Gustave Roussy

Introduction

Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) sont les sarcomes les plus fréquents, caractérisés par la mutation de l'oncogène KIT dans 70-80% des cas. Cette mutation est ciblée par l'imatinib mésylate (IM) qui engendre une amélioration remarquable de la survie des patients atteints de GIST (1). L'IM agit directement sur les tumeurs GIST mais exerce aussi un effet indirect immuno-stimulateur sur les cellules T et NK. En effet, l'IM active le dialogue entre les cellules dendritiques (CD) et les cellules natural killer (NK) et ainsi la fonction des cellules NK (2, 3). Cette fonction dépend de la transcription des isoformes de NKp30 et conduit à des différences biologiques au niveau de la réponse anti-tumorale (4). Par ailleurs, nous avons démontré moyennant des méthodes immunohistochimiques que l'infiltrat des cellules NK prédit la survie sans progression des GIST localisées (5). De plus, il a été démontré que l'IM inhibe l'enzyme IDO des cellules tumorales GIST, réduisant ainsi le nombre des cellules T régulatrices et permettant l'augmentation des cellules effectrices T CD8⁺ favorables à l'immunité anti-GIST (6). Malgré son efficacité, l'IM est rarement curatif, ce qui nous a motivés à investiguer les bio-marqueurs immunitaires liés aux pronostics des patients atteints de GIST, afin de mieux guider les décisions thérapeutiques.

Resultats**La transcription des isoformes de NKp30 ainsi que leurs taux d'expression prédisent la survie des patients atteints de GIST métastatique**

Le récepteur cytotoxique NKp30 est exprimé par les cellules NK et joue un rôle dans la reconnaissance des cellules tumorales et dans le dialogue des cellules CD et NK. Les trois isoformes majoritaires de NKp30 présentent chacune un domaine intra-cytoplasmique spécifique : NKp30a, NKp30b et NKp30c. Les isoformes NKp30a et b sont pro-TH1 (IFN γ et TNF α), alors que l'isoforme NKp30c induit la production de la cytokine immunosuppressive IL-10. La transcription prédominante de l'isoforme de NKp30c, ou un faible ratio entre l'isoforme NKp30b et NKp30c (faible RBC), a une valeur pronostique chez les patients GIST métastatiques dans une cohorte test (réf. 4 et Figure 1A) et, comme démontré ici, dans une cohorte de validation (Figure 1B et Figure 1C, cohorte poolée). En outre, le taux d'expression des isoformes de NKp30 prédit la survie des patients atteints de GIST métastatique dans une cohorte test et une cohorte de validation (cohorte poolée, Figure 1D). La combinaison du ratio des isoformes de NKp30 (RBC) et du taux d'expression de NKp30 met en évidence un groupe de patients avec un mauvais pronostic (Figure 1E) qui pourrait bénéficier d'une immunothérapie visant à augmenter le taux d'expression de NKp30.

B7-H6 et Bat-3, ligands solubles de NKp30, sont des bio-marqueurs de survie sans progression des patients atteints de GIST métastatique

Nous avons ensuite investigué un des mécanismes d'échappement tumoral en mesurant, chez des patients GIST métastatiques, les taux sériques des ligands solubles de NKp30 (sB7H6 et sBat-3), de NKG2D (sMIC) ainsi que de la thrombospondine et de l'ostéopontine à titre de contrôle. Le B7H6 soluble est détecté dans le sérum de patients GIST au diagnostic, essentiellement chez les patients porteurs de tumeur (non opérés). Ce taux diminue après traitement par l'IM, suggérant que le B7H6 soluble est sécrété et/ou clivé par les tumeurs GIST. Le taux de Bat-3 soluble, au contraire, augmente après traitement IM, parallèlement au taux d'apoptose des tumeurs GIST induite par l'IM. La présence d'un des deux ligands solubles sériques de NKp30, sB7H6 ou sBat-3, prédit la survie sans progression des patients GIST métastatiques (Figure 1F, 1G et taux combiné en 1H).

Le taux de MIC soluble est en revanche un bon facteur pronostique pour la survie des patients atteints de GIST, alors que la thrombospondine et l'ostéopontine n'ont pas d'impact sur la survie (résultats sans figure).

En conclusion, tant les ratios et l'expression des isoformes de NKp30 que les taux sériques solubles de leurs ligands représentent des bio-marqueurs du pronostic de patients atteints de GIST qui pourraient servir à mieux guider les décisions thérapeutiques. Ces résultats nous incitent à évaluer de nouvelles combinaisons thérapeutiques permettant l'activation et la fonction des cellules NK, par exemple des thérapies visant à augmenter le taux de transcription de NKp30.

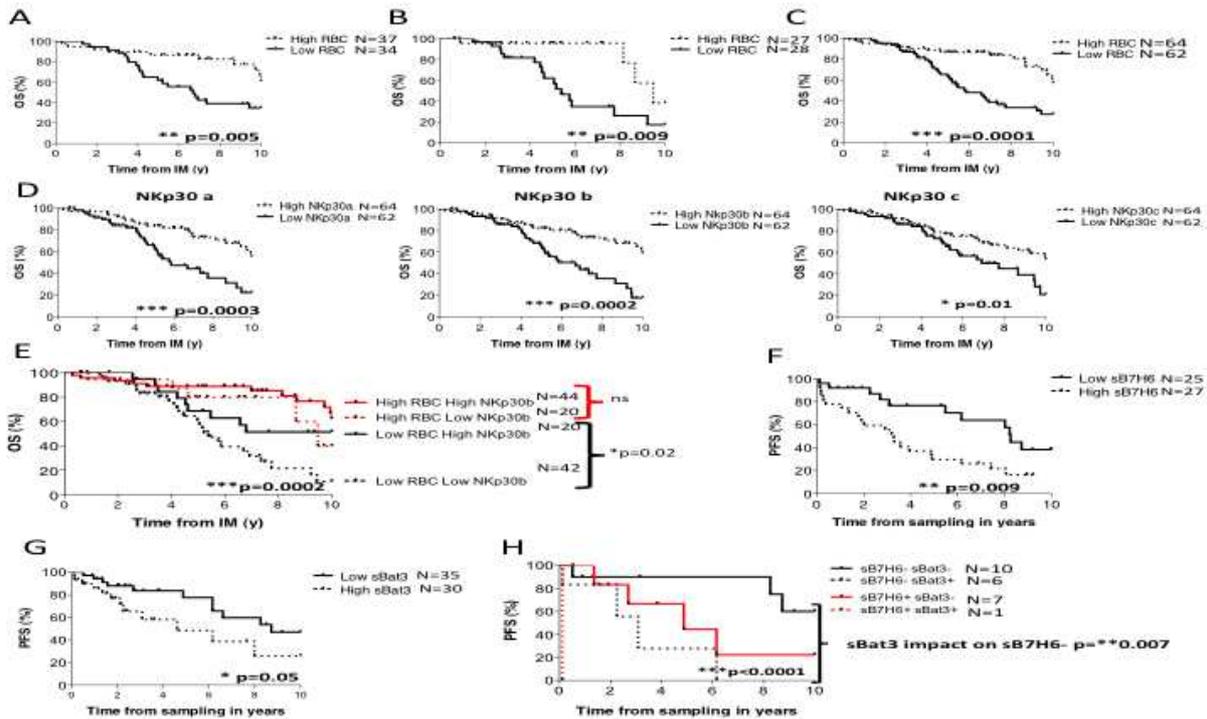


Figure 1 : La transcription des isoformes de NKp30 et les taux solubles des ligands de NKp30 (B7H6 et Bat-3) prédisent le devenir clinique des patients atteints de GIST métastatique

Le ratio de transcription des isoformes NKp30b et NKp30c (RBC) prédit la survie des patients GIST métastatiques dans une cohorte test (N=71, **A**), une cohorte de validation (N=55, **B**) et une cohorte poolée (N=126, **C**). En outre, les taux de transcription de NKp30a (**D**, panneau de gauche), de NKp30b (**D**, panneau central) et plus faiblement de NKp30c (**D**, panneau de droite) prédisent également la survie des patients GIST métastatiques (cohorte test et validation poolée de N=126). La combinaison du ratio RBC et du taux de transcription de NKp30 sont illustrés dans le panneau (**E**). Les taux sériques solubles des ligands de NKp30, sB7H6 (**F**) et sBat-3 (**G**) ou des deux combinés (**H**) détectés au diagnostic prédisent la survie sans progression des patients atteints de GIST métastatique.

Références

- Demetri G.D et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced GIST tumors. *N Engl J Med.* 2002; 347: 472-480.
- Borg C et al., Novel mode of action of c-kit tyrosine kinase inhibitors leading to NK cell-dependent antitumor effects. *J Clin Invest.* 2004; 114: 379-388.
- Ménard C et al. Natural Killer cell IFN-gamma levels predict long-term survival with imatinib mesylate therapy in GIST-bearing patients. *Cancer Res.* 2009; 69: 3563-3569.
- Delahaye N, Rusakiewicz S et al., Alternatively spliced NKp30 isoforms affect the prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Nat Med.* 2011; 17: 700-707.
- Rusakiewicz S et al., Immune infiltrates are prognostic factors in localized GIST. *Cancer Res.* 2013; 73: 3499-3510.
- Balachandran V.P. et al. Imatinib potentiates antitumor T cell responses in GIST through the inhibition of IDO. *Nat Med.* 2011; 17: 1094-1100.
- Rusakiewicz S et al. NKp30-related biomarkers predict prognosis of metastatic GIST patients. Manuscrit en préparation.

FONDS

FONDS « RECHERCHE TRANSLATIONNELLE – SARCOMES »

Mécanismes de déclenchement et de développement des sarcomes

Collaboration entre le CHUV, Lausanne et l'IGR, Paris

Ce « fonds affecté », provenant d'une donation privée d'une valeur de CHF 300'000.- par année, a été attribué en janvier 2012 pour cinq ans

Laboratoires de recherche : Institut de Pathologie, UNIL/CHUV, Lausanne

Directeur : **Prof. Ivan Stamenkovic**

Introduction

Les sarcomes sont des tumeurs malignes de l'os et des tissus mous qui représentent environ 2% de toutes les tumeurs malignes humaines, mais près de 15% des cancers pédiatriques. En dépit de la thérapie multimodale, la plupart des sarcomes ont un mauvais pronostic et une tendance métastatique élevée. Ceci est dû en partie au fait que la biologie des sarcomes est encore mal comprise.

Objectifs du projet

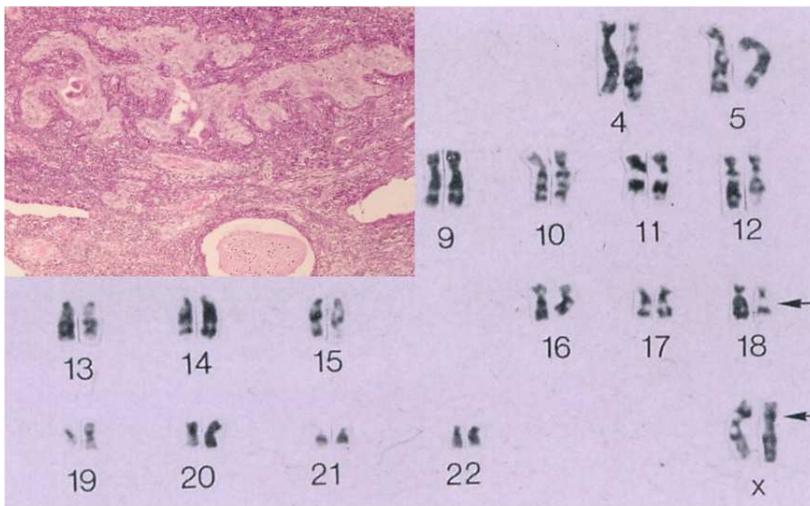
Nous avons entrepris des études visant à identifier les cellules à l'origine de la plupart des sarcomes dans le but d'élucider les événements oncogéniques provoquant la transformation de cellules primaires et le développement de tumeurs ayant les propriétés de tumeurs naturelles, y compris la capacité de former des métastases. Nous avons démontré que les cellules souches mésenchymateuses (MSC) dérivées de la moelle osseuse sont à l'origine du sarcome d'Ewing, une forme de cancer de l'os touchant les enfants et les jeunes adultes, et du liposarcome myxoïde. Cependant, d'autres sarcomes, tels l'ostéosarcome et le sarcome synovial, semblent également provenir des MSC.

Nous avons identifié les mécanismes à la base de la transformation des MSC et provoquant le développement du sarcome d'Ewing. Nous avons constaté que le gène de fusion EWS-FLI1, caractéristique du sarcome d'Ewing et apparaissant lors d'une translocation chromosomique spécifique, induit une série de modifications épigénétiques dans les MSC conduisant à la transformation. Ces modifications comprennent des changements au niveau de la structure de la chromatine qui altèrent l'expression des gènes clés régulant la survie et la prolifération des cellules ainsi que des changements dans l'expression des ARN non codants, dits microARN (miARN). Ces miARN contrôlent l'expression de réseaux complets de gènes. Nous avons démontré que la modulation du profil d'expression des miARN dans les MSC conduit à l'apparition de cellules souches cancéreuses (CSC) dans le sarcome d'Ewing. Il semblerait que les CSC constituent la force motrice dans la plupart des tumeurs, du fait qu'elles ont la capacité de s'auto-renouveler et de provoquer une progéniture plus différenciée de cellules cancéreuses qui constituent une masse tumorale. Comme les CSC se divisent lentement, elles sont relativement peu touchées par les thérapies anticancéreuses conventionnelles visant à éliminer rapidement la prolifération des cellules. Nous utilisons des approches similaires pour élucider la pathogenèse d'autres sarcomes.

Résultats après la troisième année

En 2014, nous avons poursuivi cinq axes principaux de recherche sur les sarcomes. Le premier était la conclusion de notre travail sur le traitement du sarcome d'Ewing et, plus spécifiquement, l'étude de la combinaison d'une thérapie ciblée visant à éliminer les cellules souches cancéreuses avec une thérapie conventionnelle visant à éliminer la masse des cellules tumorales. Au cours de nos travaux antérieurs, nous avons démontré que l'enoxacine peut normaliser l'expression des miARN dans les CSC et conduire ces dernières vers la différenciation et la perte de leurs propriétés d'auto-renouvellement et d'initiation tumorale. Sur la base de ces résultats, nous avons examiné l'effet de la combinaison de l'enoxacine et de la doxorubicine sur les xénogreffes de sarcomes d'Ewing primaires dans des souris immunodéprimées. Nous avons démontré que cette combinaison inhibe la croissance tumorale de manière beaucoup plus efficace que lorsque chacune des deux drogues est administrée seule. Comme l'enoxacine est utilisée dans le traitement de diverses infections, nous procédons au lancement d'essais cliniques de la combinaison de l'enoxacine et de la chimiothérapie conventionnelle dans le traitement du sarcome d'Ewing. Ce travail a été publié dans Cancer Research (voir ci-dessous).

Le deuxième axe de recherche consiste en l'élucidation des mécanismes responsables des modifications épigénétiques qui caractérisent et maintiennent les CSC dans le sarcome d'Ewing. En utilisant la technique d'immunoprécipitation de la chromatine suivie de séquençage (ChIP-seq), nous avons commencé à définir les modifications histoniques qui distinguent les CSC de la masse des cellules tumorales dans le sarcome d'Ewing et qui sont responsables de leurs propriétés biologiques, y compris la capacité d'initier la croissance tumorale. Ce travail a l'avantage d'être effectué sur des cellules de tumeurs primaires, dont une portion n'a jamais été soumise à la culture *in vitro*. En collaboration avec un MD-PhD formé dans le laboratoire, Nicolo Riggi, nous avons pu mettre en évidence les mécanismes épigénétiques qui déterminent le pouvoir tantôt inducteur tantôt répresseur d'EWS-FLI-1 et son effet sur la reprogrammation des cellules transformées. Ce travail a été publié dans *Cancer Cell* (voir ci-dessous).



Sarcome synovial biphasique avec translocation réciproque t (X; 18)

Sarcome synovial biphasique montrant un phénotype épithéloïde (flèche) et mésenchymateux. La translocation chromosomique t (X; 18) caractéristique qui génère le gène de fusion SYT-SSX est également illustrée (flèches).

En troisième lieu, nous poursuivons l'étude de la pathogenèse du sarcome synovial, une tumeur hautement maligne qui survient en majeure partie chez les jeunes adultes et qui est associée à une translocation chromosomique générant le gène de fusion SYT-SSX. La protéine de fusion codée par SYT-SSX se comporte comme un régulateur de transcription, mais son mode d'action demeure inconnu. Nous avons pu observer que SYT-SSX active sélectivement la voie de signalisation Wnt qui joue un rôle clé dans la détermination de la pluripotentialité cellulaire, participant ainsi de manière importante au maintien des CSC. Nous avons, durant cette année, élucidé les mécanismes moléculaires au moyen desquels SYT-SSX altère la signalisation Wnt d'une manière qui assure la survie des cellules du sarcome synovial ainsi que leur capacité d'initier la croissance tumorale.

Les quatrième et cinquième axes de recherche comportent la caractérisation de l'hétérogénéité cellulaire et des interactions tumeur-hôte de sarcomes qui ne sont pas associés à des translocations chromosomiques spécifiques. Nous étudions les fibrosarcomes myxoïdes et les léiomyosarcomes dans ces projets.

Publications

1. Riggi N, Knoechel B, Gillespie S, Rheinbay E, Boulay G, Suvà ML, Rossetti NE, Boonseng WE, Oksuz O, Cook EB, Formey De Saint Louvent A, Patel A, Gymrek M, Thapar V, Deshpande V, Ting DT, Hornicek FJ, Nielsen GP, Stamenkovic I, Aryee MJ, Bernstein BE, Rivera MN.. EWS-FLI1 utilizes divergent chromatin remodeling mechanisms to directly activate or repress enhancer elements in Ewing sarcoma. *Cancer Cell*, 2014; 26:668-861
2. Cornaz-Buros S, Riggi N, DeVito C, Sarre A, Letovanec I, Provero P, Stamenkovic I. Targeting cancer stem-like cells as an approach to defeating cellular heterogeneity in Ewing sarcoma. *Cancer Res.*, 2014; 74:6610-6622.

FONDS

FONDS « RECHERCHE TRANSLATIONNELLE – IMMUNOTHÉRAPIE DU CANCER » **Optimisation des lymphocytes T pour l'immunothérapie du cancer**

Ce « fonds affecté », provenant d'une donation privée d'une valeur de CHF 235'000.- a été accordé en juin 2013 pour deux ans

Il a été attribué au groupe de recherche du **Dr Nathalie Rufer** (LICR@UNIL)

Introduction

L'immunothérapie des cancers – traitement visant à exploiter et potentialiser la réponse du système immunitaire contre les cellules tumorales – représente l'approche la plus prometteuse chez les patients réfractaires aux traitements conventionnels. La réponse immune anti-tumorale repose principalement sur l'existence de cellules T capables de reconnaître les cellules malignes et de les détruire, et ce grâce à l'expression de récepteurs spécifiques. Les essais cliniques basés sur l'infusion de cellules T anti-tumorales attestent du potentiel thérapeutique de cette approche, ainsi que de son innocuité. Cependant, son efficacité reste limitée de par la difficulté d'obtenir pour chaque patient des cellules T capables de développer une réponse aboutie et durable vis-à-vis des cellules tumorales.

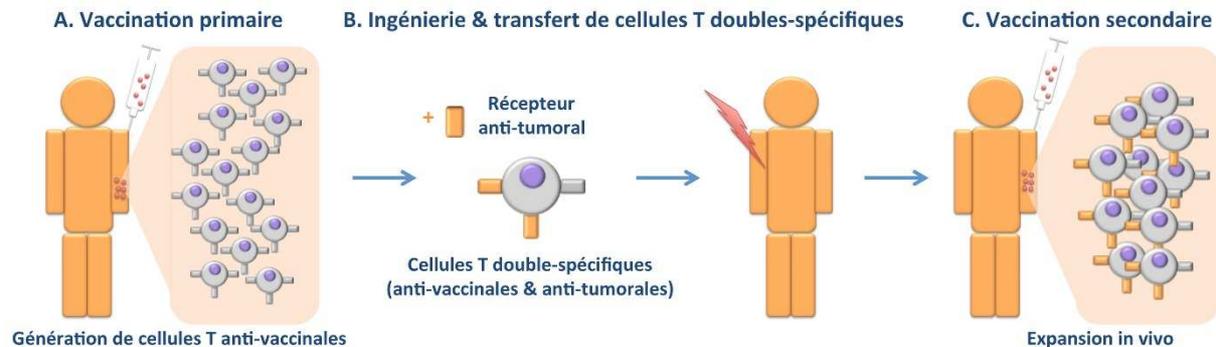
Objectifs

L'ingénierie des cellules T a été développée en tant que procédé alternatif permettant de générer un grand nombre de cellules T anti-tumorales. Cette avancée majeure consiste à pourvoir des cellules T d'une activité anti-tumorale, en les dotant de récepteurs préalablement optimisés afin d'augmenter leur reconnaissance contre les antigènes tumoraux. Cette stratégie innovante offre également la possibilité de sélectionner des sous-types de cellules T plus susceptibles d'exercer une activité anti-tumorale efficace et de longue durée.

Les vaccins anti-viraux confèrent une immunité protectrice durable, grâce au développement de cellules T anti-vaccinales hautement opérantes et persistantes (dites mémoire). Ce projet, soutenu par la Fondation ISREC, vise à examiner la possibilité et les avantages d'équiper des cellules T anti-vaccinales pour qu'elles co-expriment des récepteurs anti-tumoraux. Notre hypothèse est que cette stratégie innovante permettra de générer des cellules T bénéficiant des facultés de longévité des cellules mémoire, et capables d'exercer une activité anti-tumorale de longue durée (cf. figure).

Résultats

Nous étudions actuellement la faisabilité de cette approche en générant et caractérisant, *in vitro*, de telles cellules T possédant une double spécificité (anti-vaccinale et anti-tumorale). Nous avons choisi d'exploiter les cellules T induites par la vaccination contre le virus de la fièvre jaune qui sont naturellement douées d'une grande capacité de persistance *in vivo*. Nous avons optimisé les processus d'isolation, de culture et de transfert de récepteurs anti-tumoraux dans ces cellules anti-fièvre jaune, et avons ainsi réussi à générer des cellules T co-exprimant des récepteurs anti-vaccin et anti-tumoraux, et dotées d'une double réactivité. Nous avons également développé un ensemble d'outils conçus pour évaluer les modalités d'action des cellules T double-spécifiques, avec un intérêt particulier pour leur potentiel de survie.



L'ingénierie des cellules T double-spécifiques pour l'immunothérapie du cancer : principe et processus

(A) Une première vaccination du patient permet de générer, *in vivo*, des cellules T anti-vaccinales. **(B)** Ces cellules T anti-vaccinales sont ensuite modifiées, *ex vivo*, afin d'exprimer un récepteur anti-tumoral, puis sont ré-infusées chez le patient. **(C)** L'effet thérapeutique peut être potentialisé en stimulant l'expansion, *in vivo*, des cellules T double-spécifiques par un rappel vaccinal.

Perspectives

Nous projetons désormais de générer des cellules T doubles-spécifiques à partir d'une cohorte de donneurs sains vaccinés contre la fièvre jaune. Ces cellules T anti-vaccinales seront modifiées pour exprimer un panel de récepteurs anti-tumoraux d'affinité/de reconnaissance variables contre les cibles tumorales, afin de déterminer les modalités leur conférant une fonction anti-tumorale optimale. Nous étudierons également la possibilité d'accroître l'efficacité thérapeutique de cette approche, en sélectionnant des sous-populations de cellules T mémoire dotées d'une remarquable longévité.

En résumé, notre projet vise à améliorer les procédés d'ingénierie de cellules T anti-tumorales, en proposant une stratégie innovante pour disposer de cellules T dotées d'une activité anti-tumorale optimale et d'un potentiel de survie accru, permettant le développement de protocoles d'immunothérapies anti-tumorales plus efficaces et durables.

Publications

1. Bordry N, Costa-Nunes C, Cagnon L, Gannon PO, Abed-Maillard S, Baumgaertner P, Murray T, Letovanec I, Lazor R, Bouchaab H, Rufer N, Romano E, Michielin O, and Speiser DE. Pulmonary sarcoid-like granulomatosis after multiple vaccinations of a long-term surviving metastatic melanoma patient. *Cancer Immunol Res.* 2(12):1148-53. 2014
2. Iancu EM, Gannon PO, Laurent J, Gupta B, Romero P, Michielin O, Romano E, Speiser DE, and Rufer N. Persistence of EBV antigen-specific CD8 T cell clonotypes during homeostatic immune reconstitution in cancer patients. *PLoS One.* 8(10): e78686. 2013
3. Hebeisen M, Oberle SG, Presotto D, Speiser DE, Zehn D, and Rufer N. Molecular insights for optimizing T cell receptor specificity against cancer. Review. *Front Immunol.* 4:154. 2013
4. Hebeisen M, Baitsch L, Presotto D, Baumgaertner P, Romero P, Michielin O, Speiser DE, and Rufer N. SHP-1 phosphatase activity counteracts increased T cell receptor affinity. *J Clin Invest.* 123(3):1044-56. 2013

FONDS

FONDS « RECHERCHE FONDAMENTALE »

Analyse *ex vivo* de l'instabilité génomique des cellules normales et cancéreuses

Collaboration entre l'EPFL et les HUG

Ce « fonds affecté », provenant d'une donation de la Fondation de Bienfaisance Pictet et d'un montant de CHF 100'000.- par année, a été attribué en septembre 2014 pour trois ans
Laboratoires de recherches du **Prof. Joerg Huelsken** (EPFL/SV/ISREC)

Introduction

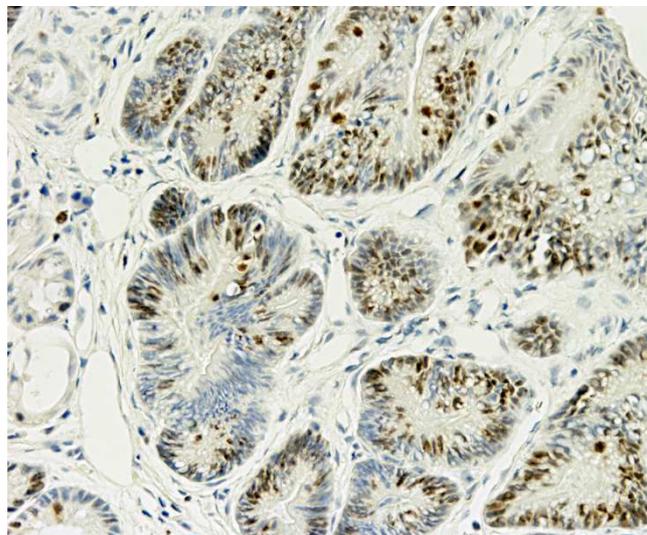
Il est établi que l'une des principales caractéristiques distinguant les cellules cancéreuses des cellules normales est la présence d'une instabilité génomique. Cette instabilité génomique est considérée comme un facteur important dans le développement du cancer : la production continue d'altérations génomiques permet de sélectionner des variantes de cellules cancéreuses, condition préalable à l'évolution de cellules à croissance de plus en plus rapide, pouvant aussi expliquer l'apparition de cellules cancéreuses résistantes aux traitements. Il existe plusieurs types d'instabilité génomique. L'instabilité chromosomique, qui désigne les changements de structure et de nombre des chromosomes, est observée dans presque tous les types de cancer. Un autre type d'instabilité génomique implique la présence de mutations ponctuelles (changement d'un seul nucléotide).

Certains cancers sont caractérisés par la présence de mutations héréditaires des gènes de réparation de l'ADN. Si ces cancers présentent un taux très élevé de mutations ponctuelles, ils ne représentent toutefois qu'une petite partie de la morbidité due au cancer chez l'homme. Dans la plupart des cancers, ces gènes de réparation de l'ADN ne mutent pas. C'est pourquoi certains postulent que l'instabilité génomique au niveau des mutations ponctuelles ne joue aucun rôle dans la cancérogenèse. Les tenants de cette thèse soutiennent que les mutations observées dans les cancers chez l'homme ne font que refléter le nombre élevé de divisions cellulaires que subissent les cellules cancéreuses. Selon ce point de vue, les cellules à réplication rapide connaîtraient de nombreuses mutations ponctuelles de leur génome, même chez une personne en bonne santé. Cependant, comme ces cellules n'ont pas pu être isolées en quantité suffisante, il est impossible de séquencer leur génome pour déterminer leur fardeau de mutation.

Résultats jusqu'à présent

Notre récente étude de séquençage des adénomes du côlon a montré une bonne corrélation entre le fardeau de mutation et la taille (et donc l'âge) de la tumeur. Ce résultat suggère que les adénomes coliques, qui sont des lésions précancéreuses, accumulent des mutations ponctuelles à un taux environ 200 fois plus élevé que les cellules normales.

Si cela est vraiment le cas, on peut envisager plusieurs mécanismes pour expliquer un tel taux d'instabilité génomique. L'un d'entre eux pourrait être qu'il est plus difficile de réparer les lésions de l'ADN simple brin. L'ADN se présente généralement sous forme d'un double brin qui facilite les réparations. Mais les problèmes de réplication de l'ADN en présence d'un cancer entraînent invariablement une séparation des brins d'ADN, et la réparation inefficace de l'ADN simple brin augmente le taux de mutation. Un autre mécanisme pouvant conduire à des taux plus élevés de mutations ponctuelles en présence d'un cancer pourrait impliquer la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), susceptibles d'augmenter le taux de dommages à l'ADN.



Division cellulaire dans le tissu de cancer du côlon.

Objectifs des recherches

Nous nous proposons de répondre à deux questions essentielles pour mieux comprendre le développement du cancer chez l'homme et l'émergence de la résistance aux traitements :

1. Les cellules cancéreuses ont-elles un taux plus élevé de mutations ponctuelles ?
Et, dans l'affirmative,
2. Quels sont les mécanismes qui entraînent cette augmentation du taux de mutations ponctuelles ?

Pour répondre à ces questions, nous nous sommes fixés deux objectifs spécifiques :

1. Déterminer le fardeau de mutation des cellules normales et cancéreuses du côlon. Le côlon est l'un des rares tissus présentant des taux de division cellulaire similaires dans les cellules normales et cancéreuses. Ceci va nous permettre d'établir si les taux de mutation sont les mêmes dans ces deux types de cellules, ou s'ils sont différents.
2. Examiner les mécanismes qui conduisent à des mutations ponctuelles dans les cellules normales et cancéreuses, en mettant l'accent sur le stress réplicatif dans l'ADN et la production de DRO.

ORGANISATION

Fondée le 18 juin 1964, la Fondation ISREC est une fondation privée, sans but lucratif.

La Fondation a commencé son activité par la création de l'Institut Suisse de Recherche Expérimentale sur le Cancer. Aujourd'hui, elle a pour mission de sélectionner et soutenir des projets de recherche translationnelle sur le cancer, c'est-à-dire favorisant le transfert de connaissances et la collaboration entre recherche fondamentale et recherche clinique. Ces projets innovateurs permettent de traduire les découvertes en résultats et promettent de générer un impact positif sur le futur traitement du cancer humain.

La Fondation est composée des organes suivants :

LE CONSEIL DE FONDATION

Le Conseil de Fondation exerce la direction suprême de la Fondation. Il affecte les ressources, désigne ses membres ainsi que ceux du Conseil scientifique, de la Direction et de l'Organe de révision. Il approuve chaque année le budget et les comptes de la Fondation.

Président

M. Yves J. Paternot

Administrateur

Membres

Mme Martine Brunshwig Graf

Economiste, ancienne conseillère nationale, ancienne présidente du Conseil d'Etat du Canton de Genève

Prof. Franco Cavalli

Représentant du Conseil scientifique, Directeur scientifique, IOSI (Istituto Oncologico della Svizzera Italiana, Bellinzona)

Prof. Jean-Luc Chenux

Avocat

Mme Catherine Labouchère

Juriste, députée au Grand Conseil du Canton de Vaud

Prof. Pierre-François Leyvraz

Directeur général, CHUV (Centre Hospitalier Universitaire Vaudois)

Prof. Philippe Moreillon

Vice-recteur, UNIL (Université de Lausanne)

Prof. Didier Trono

Professeur ordinaire, GHI (Global Health Institute), EPFL (Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne)

Prof. Thomas Zeltner

Ancien directeur Office fédéral de la santé publique

LE CONSEIL SCIENTIFIQUE

Le Conseil scientifique est composé d'experts de renommée internationale dans différents domaines de la recherche contre le cancer.

Président

Prof. Franco Cavalli

Directeur scientifique, IOSI (Istituto Oncologico della Svizzera Italiana)

Membres

Prof. Adriano Aguzzi

Directeur, Institut de neuropathologie, Hôpital universitaire de Zurich

Prof. Martin Fey

Directeur, Clinique et polyclinique d'oncologie médicale, Inselspital - Hôpital universitaire de Berne

LA DIRECTION

La Direction sélectionne avec l'aide du Conseil scientifique les projets de recherche à soutenir et adresse ses préavis au Conseil de Fondation. Elle élabore et propose une stratégie de recherche de fonds et assume les tâches qui lui sont attribuées par le règlement de la Fondation.

Prof. Francis-Luc Perret

Directeur

L'ORGANE DE REVISION

L'Organe de Révision, dont les tâches sont attribuées par la loi, est nommé par le Conseil de Fondation. Il est élu pour une année. Le mandat 2014 a été confié à **Ernst & Young SA**, société fiduciaire suisse reconnue par la Chambre fiduciaire suisse.

FINANCES

RESSOURCES

Pour lui permettre de poursuivre son but, la Fondation dispose de libéralités testamentaires, de dons privés ainsi que du rendement de sa fortune et de toutes autres ressources.

Au 31 décembre 2014, la fortune de la Fondation s'élevait à environ CHF 53 millions.

Total des subsides attribués en 2014	CHF	2'453'000
Projets soutenus dans le cadre de la relève scientifique	CHF	353'000
Bourse « Cancer et immunologie »	CHF	40'000
Bourse « Cancer et immunologie »	CHF	40'000
Bourse « Cancer et immunologie »	CHF	40'000
Bourse « Cancer et immunologie »	CHF	40'000
Bourse « Approches moléculaires du vivant »	CHF	80'000
Bourse « Approches moléculaires du vivant »	CHF	80'000
12 Bourses « International Summer Research Program »	CHF	33'000
Projets soutenus dans le cadre de la recherche translationnelle	CHF	2'100'000
Chaire ISREC « Oncologie translationnelle »	CHF	500'000
Chaire ISREC « Oncologie fondamentale »	CHF	500'000
Chaire ISREC « Oncologie translationnelle »	CHF	500'000
Fonds « Recherche translationnelle – glioblastome »		solde versé en 2012
Fonds « Recherche translationnelle – sarcome » - IGR	CHF	200'000
Fonds « Recherche translationnelle – sarcome » - CHUV	CHF	300'000
Fonds « Recherche translationnelle – immunothérapie du cancer »		solde versé en 2013
Fonds « Recherche fondamentale »	CHF	100'000
Total dons, legs, successions, bourses externes reçus en 2014	CHF	5'469'761
58 dons spontanés de particuliers	CHF	174'162
16 dons d'entreprises, d'associations, de fondations	CHF	231'500
8 dons pour bourses / fonds affectés	CHF	4'359'458
84 dons en mémoire de personnes décédées	CHF	38'768
35 legs, successions	CHF	665'873
Capital de la Fondation (Fonds libres)	CHF	38'169'717
Capital réservé (Fonds à affectation limitée)	CHF	8'231'908
Bourses	CHF	500'000
Fonds	CHF	1'231'908
Chaires ISREC	CHF	6'500'000
Capital réservé AGORA – Centre du Cancer	CHF	2'777'091

SOUTENIR NOTRE CAUSE

FAIRE UN DON

Le financement des projets de la Fondation ISREC est assuré par des donations, legs et successions de personnes sensibilisées à notre cause. Votre aide est donc capitale pour la poursuite de notre mission : le soutien de projets de recherche sur le cancer et la formation de la relève scientifique en Suisse.

Plusieurs possibilités de soutien s'offrent à vous

Faire un don

Parrainer un doctorant

Parrainer de jeunes professeurs affiliés à une université ou une haute école suisse

Parrainer des post-doctorants pour le développement de projets de compétence au niveau national

Par une disposition de dernières volontés

Qu'il soit modeste ou important, chaque don compte et contribue à notre mission.

MERCI DE VOTRE SOUTIEN

Fondation ISREC

Rue du Bugnon 21 / 1011 Lausanne

CCP 10-3224-9 IBAN CH55 0900 0000 1000 3224 9

UBS, 1002 Lausanne IBAN CH11 0024 3243 G020 3554 0

BCV, 1001 Lausanne IBAN CH03 0076 7000 U032 9261 3

DÉDUCTIONS FISCALES

Impôts au niveau fédéral

Une déduction jusqu'à 20% du revenu net est possible, pour autant que les prestations s'élèvent au total à CHF 100.- au moins.

Impôts au niveau cantonal

Canton de Fribourg, jusqu'à 20% du revenu net, pour autant que les prestations s'élèvent au total à CHF 100.- au moins. **Canton de Genève**, jusqu'à 20% du revenu net, pour les personnes physiques, 20% du bénéfice net pour les personnes morales. **Canton du Jura**, jusqu'à 10% du revenu net pour les personnes physiques, jusqu'à 10% du bénéfice net pour les personnes morales. **Canton de Neuchâtel**, jusqu'à 5% du revenu net, pour autant que le total des donations s'élève à au moins CHF 100.-. **Canton du Valais**, jusqu'à 20% du revenu net pour les personnes physiques et jusqu'à 20% du bénéfice net pour les personnes morales. **Canton de Vaud**, personnes physiques : jusqu'à 20% du revenu net diminué des déductions prévues, à condition que ces dons s'élèvent au moins à CHF 100.-. Personnes morales : jusqu'à 20% du bénéfice net. Pour les **autres cantons suisses**, les informations contenues sur le site de la Fondation Zewo (www.zewo.ch) sont applicables.

FISCALITÉ DE LA FONDATION ISREC

Etant considérée comme une institution de pure utilité publique, la Fondation ISREC est exonérée des impôts fédéraux, cantonaux et communaux ainsi que des impôts sur les donations et successions.

LIVRE D'OR

Depuis 1964, de très nombreux donateurs ont soutenu notre cause. Par leur don ou leur legs, ils ont encouragé la recherche sur le cancer. Leur geste, modeste ou important, représente un soutien inestimable.

A tous, un très grand MERCI.

Parmi ces donateurs, plus de cinq cents figurent dans notre livre d'or :

CONTRIBUTIONS DE PLUS DE CHF 1 MILLION

Un don anonyme / une succession anonyme, Lausanne / Mme Annette B., Vevey / Mme Anne-Laurence B., Prévèrenge / Mme Hilda D., Colombier / M. Dimitri D., Pully / Mme Johanne G., Lausanne / Mme Jeanne H., Neuchâtel / Fondation Helmut Horten, Lugano / Mme Henriette H.-C., Lausanne / M. Jean-Pierre H., St Imier / Lartek Limited, Bermudes / Fondation Leenaards, Lausanne / Ligue Suisse contre le cancer, Berne / Loterie Romande, Lausanne / Mme Marie M., Marin / Fondation Porthos, Vaduz / Mme Judith P., Lausanne / Mme Martine Monique R., Genève / M. Eric S., Neuchâtel / Fonds Sevastopoulou, Lausanne / Monsieur Marc V., Lausanne / Canton de Vaud

CONTRIBUTIONS ENTRE CHF 100'000.- ET CHF 1 MILLION

Trente-trois dons anonymes / Canton d'Argovie / Mme Charlotte B., Romanel / Mme Dina Henriette B., Vevey / Canton de Berne / Mme Adelheid Gertrud B., Hilterfingen / Mme Elise B., Chailly-s/Montreux / Câbleries et Tréfileries de Cossonay / Mme Jeannette C., Vevey / Mme Anne-Marie C., La Tour-de-Peilz / Mme Florence Helen C., La Tour-de-Peilz / Ciba-Geigy SA, Bâle / Fondation Copley May, Genève / Mme Suzanne C., Prilly / Mme Ida d'A., Lausanne / Mme Simone D., Lausanne / M. Irgard D., Locarno / M. Henri D., Monaco / Mme Clara D., Montreux / Mme Doris Ursula D., St-Sulpice / Mme Catherine D., Montreux / M. Marcel D., Lausanne / Echec au cancer de la Broye, Payerne / Mme Elisabeth E., Genève / Mme Bertha F., Yverdon / Fondation Alfred Fischer, Lausanne / Mme Lilia F., Lausanne / Canton de Fribourg et Ligue fribourgeoise contre le cancer / Mme Esmeralda G., Lausanne / Canton de Genève / M. Louis G., Prilly / Mme Andrée Lucienne G., Pully / Fonds Gygi-Beguïn, Lausanne / M. René H., Lausanne / Mme Elvine H., Montreux / Fondation Heskem, Vaduz / M. Georg Philip H., Leipzig / Hoffmann-La Roche & Co, Bâle / Mme Marguerite J.-K., Lausanne / Mme Alice J., Pully / Canton du Jura / Mme Consuela K., Lausanne / Fondation Lardecò, Vaduz / Municipalité de Lausanne / Mme Marthe L., Lausanne / Ligue vaudoise contre le cancer, Lausanne / Mme Yvette L., Vevey / Mme Laura L., Espagne / M. Pierre Louis L., Lausanne / M. Karl Heinz M., Krienz / Mme Marie-Louise M., Corsier / Fondation Medic, Lausanne / Mme Odette M., Lausanne / M. Roland M., Cugy / Mme Liliane M., Lausanne / Mme Louisa M., Lausanne / Mme Marthe M., Lausanne / Mme Denise Alice N., Neuchâtel / Nestlé SA, Vevey / Canton de Neuchâtel / Mme Marie-Louise P., Lausanne / M. Franz P., Coppet / Fondation Jacqueline Petit, Lausanne / Fondation de bienfaisance de la Banque Pictet & Cie, Carouge Ge / M. Pierre P., Estavayer-le-Lac / Mme Marthe P., Lutry / Mme Elisabeth P., Neyruz / Mme Louise Q., Renens / Mme Nina R., Pully / M. Edouard-Marcel S., Lausanne / Mme Paulette S., Denens / M. et Mme S.-B., Sierre / Mme Georgette S., Genève / Mme Rosalie S., Montreux / Canton de St-Gall / Fondation Michel Tossizza, Lausanne / Mme Suzanne-Marie T., Payerne / Canton du Valais / Fondation Charles Veillon, Lausanne / Mme Evelyne V., Lausanne / Mme Nina W., Lonay / Prof. Dr h.c. René W. (Castolin SA), St-Sulpice / Mme Gabriella Maria W., Genève / Mme Henriette W., Lausanne / Mme Mona W., Genève / Mme Gertrud Z., Münchenstein / M. Walther Willy Z., Montreux / Canton de Zurich

CONTRIBUTIONS ENTRE CHF 50'000.- ET CHF 100'000.-

Douze dons anonymes / Mme Alice A., Moutier / Mme Yvette A., Vevey / Fondation Aiuto, Nyon / Mme Marie B., Pully / Canton de Bâle-Campagne / Mme Rachelle B., Montreux / M. Ernesto B., Genève / Mme Liliane B., Lausanne / Mme Germaine B.-R., Aubonne / M. Giovanni B., Lausanne / Centrale Suisse des Lettres de Gages, Berne / Mme Violette C., Lausanne / Mme Alice E. C., Orbe / M. Marcel C., Lausanne / Mme Teresa C.-R., Zurich / Mme Martine D., Lausanne / M. Jean D., Bienne / Mme Raymonde D., Morges / Mme Fernande D.-A., Les Cullayes / Jules & Irène Ederer-Uehlinger Stiftung, Berne / Fondation Emoua / EY (anciennement Ernst & Young), Lausanne / Mme Marie E.-B., Crans-près-Céligny / Fabrique de Câbles Electriques, Cortaillod / Mme Arlette F., Vevey / Mme Josette F., Neuchâtel / Mme Dorothea G., Lausanne / Mme Lidia G., Echallens / Mme Liliane G., Aubonne / Mme Renée H., Lausanne / Mme Marie Juliette Simone H., Genève / M. Jean-Charles H., Genève / Mme Margarete J., Lausanne / Prof. Gustave J., Zurich / Mme Marie-Louise J., Renens / La Suisse Assurances, Lausanne / Fondation Les Halliers Le Mont-sur-Lausanne / Mme Hedwige Meinrada L.-G. / Krebsliga Wallis, Sieders / Mme Raymonde M., Lausanne / Mme Marianne M., Lausanne / M. Eugen M.-M., Klichberg / Mme Andrée P., Lausanne / Mme Madeleine P., Bulle / Mme Etienne Q. da F., Lausanne / Mme Gabrielle R., Aubonne / Mme Marianne R.-B.-J., Fleurier / Mme Anne-Marie S., Romanel / Tetra Laval International, Pully / Mme Anne-Marie U., La Chaux-de-Fonds / Mme Madeleine V., Les Paccots / Mme Corinne W., Lausanne / M. Pierre Z., Lausanne

CONTRIBUTIONS ENTRE CHF 5'000.- ET CHF 50'000.-

Trente-huit dons anonymes / Mme Marie A.-D., Lausanne / Action cancer des boulangers / M. Georges A., Colombier-sur-Morges / M. Emile A., Auvornier / Mme Jacqueline A., Lausanne / Albion House Ltd, Lausanne / Alcoa International SA, Lausanne / Dr Etienne A., Lausanne / André & Cie SA, Lausanne / Canton d'Appenzel Rhodes Extérieures / Association des Câbleries Suisses, Zurich / Mme Charlotte B., Prilly / Mme Yvonne Edmée B., Auvornier / Banque Vaudoise de Crédit, Lausanne / M. Aimé B., Boudry/NE / Mme Elisabeth B., Lausanne / M. Maurice B., Lutry / Baumgartner Papiers SA, Lausanne / Mme Fidela B., Clarens / Mme Mireille B., Pully / Mme Jeanne B., Romanel / Fondation Bhema Vaduz, Neuchâtel / Mme Nicky B., Bulle / Mme Rosa B., Cossonay / Mme Emma B., Berne / Bobst & Fils SA, Lausanne / Mme Nicole B., Lausanne / Mme Clara B., Vevey / Mme Reina B., Prilly / Boillat SA, Reconville / M. Ulysse B., Lully / M. Bernard B., Bourmens / Mme Odile B., Lens / Borel & Barbey, Genève / Mmes Alice et Hélène B., Lausanne / Brauchli SA, Lausanne / Mme Lucie B., La Tour-de-Peilz / Entreprise Paul Bucher, Bâle / Mme Dorothee B., La Chaux-de-Fonds / M. Louis B., Pully / Caisse d'Epargne du District de Cossonay / M. Stefan C., St-Légier / Mme Anne-Marie C., Lausanne / Mme Eveline C., Ecublens / M. François C., Meggen / M. Jean C., Berne / Mme Nelly C.-B., Prilly / M. Frédy C., Prilly / « Comeback » des motards, Lausanne / Copycolor SA, Renens / Mlle Juliette C., Lausanne / Couvent de Sainte Ursule, Sion / M. Ernest C., Villeneuve / M. et Mme Ernest D., Echichens-sur-Morges / Mlle Simone de M. d'A., Lausanne / Mme Yolande de M., Epalinges / Mme Aïda de P. M., Lona / Régie De Rham, Lausanne / Mme Lily D., Lausanne / Monsieur Xavier D., United Kingdom / Mme Ariane D., Genève / Mme Livia D., Montreux / M. Constant D., Lausanne / M. Emile D., Châtel-St-Denis / Mme Alice D., Lausanne / Schweizerische Stiftung für den Doron-Preis, Zug / Mlle Floriane du B., Les Ponts-de-Martel / DuBois Invest LLC, Sierre / Edouard Dubied & Cie, Neuchâtel / M. Jean D. / M. Albert D., Vevey / M. Armand D., Penthaz / Ebauches SA, Neuchâtel / Ecole Hôtelière de Lausanne / Mme Marie E., Vevey / M. Roger E., Vevey / Municipalité d'Epalinges / Etablissement cantonal d'assurances, Pully / Fabrique d'Assortiments Réunis, Le Locle / Fabrique de Câbles de Brugg / Mme Francisca F., Lausanne / M. Ruedi F., Gümliigen / M. Pierre F., Romont / M. Jules F., Payerne / FPH (Fondation pour le Progrès de l'homme) / Lausanne / Mme Janine F., Yverdon / Mme Jacqueline F.-G., Lausanne / Galenica SA, Berne / Mme Genifer G., La Tour-de-Peilz / M. Mario G., Stäfa / Mlle Germaine Marie G., La Tour-de-Peilz / M. Patrice G., St-Sulpice / M. Roger G., Lonay / Canton de Glaris / Golay-Buchel & Cie, Lausanne / Mme Violette G., Lausanne / M. Johannes G., Lausanne / Grande Kermeesse de la jeunesse pour la lutte contre le cancer, Genève / Mme Hilda G., Morges / M. Daniel G. / M. François G., Lausanne / M. Gérard H., Les Diablerets / Fonds Louise Helferich, Lausanne / M. Gustav H.-M., Schaffhouse / Sources Minérales Henniez / Mme Violette H., La Tour-de-Peilz / Mlle Marguerite H., Lausanne / Mme Yvette H., Lausanne / M. Ernst H., Bienne / Mme Marylène P., Lausanne / Mme J. H., Genève / Mme Claire-Marguerite H., Genève / M. Heinz I., Lausanne / Imprimeries Réunies SA, Lausanne / Ingeni SA, Lausanne / Integra Biosciences AG Wallisellen / Interfood SA, Lausanne / Mme Ginette I., Pully / M. Olivier J. G., Lausanne / Mme Joséphine J., Sierre / Mme Germaine J., Renens / M. Hermann J., Ste-Croix / Fondation Juchum, Lausanne / Mme Elizabeth J., Montreux / Mme Suzanne J., France / Mme Betty K., Genève / Fondation Idryma Georges Katingo Lemos, Lausanne / Mme Alice K., Grandvaux / Mme Rose K., Crans-près-Céligny / Kodak SA, Lausanne / La Baloise Assurances, Bâle / La Boutique d'Occasions, Lausanne / La Genevoise Assurances, Genève / M. Charles-Edouard L., Glion / M. et Mme L.-S., Lausanne / M. Roger L., Lausanne / Mme Sandra L.T., Lausanne / Mme Alice L., Payerne / Leclanché SA, Yverdon / Lemo SA, Ecublens / M. Jean-Pierre L., Bournens / Mme Connie E.F. L., Zurich / Ligue genevoise contre le cancer, Genève / Ligue tessinoise contre le cancer, Locarno / Lo-Holding Lausanne-Ouchy SA, Lausanne / Mme Marcelle L.-H., Montreux / Mme Emilie L.-M., Lausanne / Mme Jane L., Lausanne / M. Hans L.-B., Hasle b. Burgdorf / Mme Patricia M., Bâle / M. J.-M. M., Lausanne / Mme Rachel M., Vevey / Mme Alice M., Châteaufort / Oex / Mme Francis M., Lausanne / Mme Marie-Claire M., Lausanne / Fondation Ernest Matthey, Pully / M. Pierre M., Lausanne / Mme Viviane M., Corseaux / Metalwerke AG, Domach / M. Roland M., Grandvaux / Mme Marthe M.-M., Montreux / Mme Léonie M., Lausanne / Fédération des Coopératives Migros, Zurich / M. François M., Lausanne / Mme Suzanne M., Renens / Mme Nelly M., Rossinière / Mme Charlotte M., Chavornay / Mme Angela N.-W., Berne / Mme Monique N., Vandoeuvres / Nutresco SA, Penthaz / Mme Marie O.-C., Lausanne / M. Daniel O., Villars-sous-Yens / Payot SA, Lausanne / M. Georges P., Morges / M. Jean P., Lausanne / M. René P., Lausanne / Philipps AG, Zurich / Dr Suzanne-Marie P.-R., Lausanne / Mme Ida P., Olens-sur-Lucens / Mme Mireille P., Pully / Mme Rose-Marie P., St-Aubin-Sauges / M. Emile P., Oron / M. Jules Ernest P., Orbe / Mme Elsy P., Pully / Publicitas SA, Lausanne / Mme Jeanne P., Fribourg / Ramelet SA, Lausanne / Mme Angèle R., Payerne / M. Hansueli R., Berne / M. Alfred R., Aubonne / Renault Finance SA, Lausanne / Rentenanstalt, Zurich / Retraites Populaires, Lausanne / Mme Alice R., Lausanne / Mme Anne R., Lausanne / MM. Alain & Jean-Daniel R., Berne / M. et Mme Hans & Hildegard R., Mettmenstetten / Montres Rolex SA, Genève / Rotary Club, Lausanne / Rütli Stiftung, Lucerne / Sagrave SA, Lausanne / M. et Mme David & Barbara S., Genève / Sandoz SA, Bâle / Mme Jeanne S., La Conversion-sur-Lutry / M. Carlo S., Montreux / M. G. A. S., Lausanne / Scheuchzer SA, Lausanne / M. Robert Charles S., Laupen / M. Paul-R. S., Lausanne / Mme Lucie S., Lausanne / Mme Clémence S., Lausanne / Mme Béatrice S., Pully / Mme Marguerite S., Lausanne / M. Olivier S., Rolle / Sipa SA, Prilly / Siemens-Albis AG, Zurich / Skilift Parsenn-Furka Klosters AG, Davos Platz / Fondation Sobrate, Lausanne / Société de couture, Savigny / Société de Réassurances, Zurich / Société des Chaux & Ciments de la Suisse Romande, Lausanne / Société Romande d'électricité, Clarens / Soroptimist International – Union Suisse, Grandvaux / M. et Mme Joseph S.-G., Laufens / Mme Marie S. / Commune de St-Sulpice / Mme Cécile S., St-Prex / Supra (SVRSM), Lausanne / En souvenir de Mme Marie-Jeanne S., Mont-sur-Rolle / Mme Suzanne S., Lausanne / Team Girard, Puidoux / Mlle Jeanne T., Lausanne / M. Jean T., Ste-Croix / M. Albert T., St-Saphorin-sur-Morges / Trophée Ago, Lonay / M. Georges T., Lausanne / M. Alain T., Bex / Mme Antoinette T., Nyon / Mme Anne-Marie U., La Chaux-de-Fonds / Canton d'Uri / Mlle Charlotte & Hildegard V., Davos / Mme Rosa V.-J., Lengnau / M. Benjamin V., Cully / Vaudoise Assurances, Lausanne / Mme Constance V., Le Mont-sur-Lausanne / Mme Cosette V., Givrins / Verrière de St-Prex SA / 24 Heures Presse, Lausanne / Mme Paulette V., Auvornier / Mme Nelly-Henriette V., Villeneuve / Mme Andrea V.D., Montreux / Wander SA, Berne / Mme Emmy W., St-Sulpice / Mme Lyana Elizabeth W., Montreux / M. Jacques W., Lausanne / Mme Geneviève W., Le Mouret / Winterthur Assurances, Zurich / Zellinwest SA, Genève / Zyma SA, Nyon

REMERCIEMENTS

Au terme de cette année, nous adressons notre profonde gratitude à tous nos généreux donateurs sans qui aucun de nos projets n'aurait pu être réalisé.

Un merci tout particulier est adressé également à Madame Aylin Niederberger, secrétaire générale, à Madame Virginie Porret, assistante communication, ainsi qu'à nos ambassadeurs, Messieurs Didier Grobet et Jürg Kärle pour leur fidèle engagement.

Vous avez toutes et tous contribué au développement et au succès de notre Fondation. Nous vous en sommes très reconnaissants et vous en remercions chaleureusement.

Yves J. Paternot, Président et Francis-Luc Perret, Directeur

Edition publication **Virginie Porret**

Design Pages 1 et 4 de couverture **Spirale Communication visuelle**

Crédits photos © Pp. couverture, 16, 18, 19, 22, 31 **EPFL SV ISREC** / P. 4 **Richard Burton, Trophée Ago, Team Girard**
P. 5 **Behnisch Architekten** / Pp. 6, 7, 9, 10, 12, 14, 28, 30 **UNIL/CHUV** / P. 24 **HUG** / P. 26 **IGR** / Droits réservés
