

Title: Inhibition of DNA repair by microalgal pigments (IRAPiM)

Laboratories: Mer Molécules Santé (MMS) – Le Mans Université
Unité Fonctionnalité et Ingénierie des Protéines (UFIP) – Université de Nantes

The work will be done in the two laboratories and requires mobility ability. The working language will be French, so applicant should be able to understand the project description described in French.

Supervisors and correspondence:

Professeur Benoît Chénais, MMS, Le Mans Université – bchenais@univ-lemans.fr – 02 43 83 32 51

Professeur Fabrice Fleury, UFIP, Université de Nantes – fabrice.fleury@univ-nantes.fr

Abstract

La réparation des dommages de l'ADN durant les thérapies anticancéreuses peut contribuer à la résistance des cellules tumorales, limitant ainsi l'efficacité du traitement. Chez l'homme, la réparation des cassures double-brin (CDB) de l'ADN par recombinaison homologue fait intervenir la protéine Rad51. De nombreuses publications font état de l'importance de cette protéine dans les problèmes de résistance aux traitements anticancéreux puisque son inhibition par différentes approches (antisens, RNAi) a pour effet de sensibiliser les cellules cancéreuses aux traitements. Rad51 constitue donc une cible intéressante. Dans ce contexte, la recherche d'inhibiteurs de Rad51 pourrait permettre de proposer des solutions thérapeutiques afin d'améliorer les traitements anticancéreux actuels. Les pigments caroténoïdes de microalgues, tels que la fucoxanthine et l'astaxanthine, sont connus pour leurs effets antioxydants mais d'autres propriétés intéressantes restent à explorer. Parmi celles-ci, l'effet potentiellement inhibiteur de ces pigments vis-à-vis de Rad51 a été très peu recherché et une seule publication à ce jour rapporte l'effet inhibiteur de l'astaxanthine sur Rad51. Les résultats préliminaires que nous avons pu obtenir semblent confirmer le pouvoir inhibiteur de la réparation de l'ADN par recombinaison homologue exercé par les pigments caroténoïdes et notamment la fucoxanthine. Par des expériences utilisant des techniques de biochimie (western-blot, test d'activité recombinase), biologie cellulaire (cytométrie en flux, test comètes) et moléculaire (RT-PCR quantitative), le projet proposé a pour objectif de démontrer que les pigments caroténoïdes tels que la fucoxanthine sont des inhibiteurs de la réparation de l'ADN et d'en comprendre le mécanisme d'action.

Les résultats obtenus permettraient d'ouvrir de nouvelles perspectives en termes de développement d'agents sensibilisateurs aux thérapies anticancéreuses mais également en termes de compréhension du mécanisme de réparation de l'ADN par recombinaison homologue et de son implication dans l'acquisition par les cellules tumorales d'une résistance à la chimiothérapie ou à la radiothérapie.

Contexte, objectifs et intérêt scientifique

Les thérapies anticancéreuses se heurtent fréquemment aux radio- et chimio-résistances induites ou intrinsèques des cellules cancéreuses. De fait, il a été démontré que certaines voies de réparation de l'ADN, étaient capables de restaurer l'ADN de cellules cancéreuses, endommagé au cours de traitements par les radio- ou chimiothérapies. Ces mécanismes sont depuis apparus comme des cibles thérapeutiques d'intérêt pour sensibiliser les tumeurs. Cette approche a été renforcée par le récent exemple des inhibiteurs de poly(ADP-ribose)-polymerase (PARP), protéine connue pour détecter certains dommages de l'ADN. Des cancers du sein présentant des mutations de BRCA2 sont apparus hypersensibles aux inhibiteurs de PARP, confirmant ainsi leur capacité chimio-sensibilisante (Moeller et al., 2010).

Les cassures doubles brin (CDB) de l'ADN sont les altérations nucléiques les plus délétères qui peuvent être réparées par la voie de la recombinaison homologue (RH). La protéine Rad51 est l'élément principal de cette voie de réparation. Une dérégulation de Rad51 peut aboutir à la cancérogenèse et favoriser la résistance de ces cancers. La surexpression de Rad51 conduit en effet à un taux élevé de RH et provoque une instabilité génomique des cellules à l'origine de certains cancers (Radershall et al., 2002). De plus, dans des cellules cancéreuses, cette surexpression assure une résistance en favorisant la réparation des CDB induites par les traitements anticancéreux. Il a été montré que la survie de patients atteints d'un cancer exprimant un taux plus élevé de Rad51 est plus courte et qu'une diminution de la quantité de Rad51 par un traitement antisens ou ribozyme augmente l'efficacité du traitement du cancer par radiothérapie (Ohnishi et al., 1998 ; Collis et al., 2001). Rad51 constitue donc aujourd'hui une cible pertinente pour moduler la RH et ainsi potentialiser les traitements antitumoraux (Velic et al., 2015 ; Renodon-Cornière et al., 2013).

Les pigments de microalgues et notamment les caroténoïdes sont bien connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Farruggia et al., 2018 ; Kim & Pangestuti, 2011 ; Yasui et al., 2011). Cependant, les pigments caroténoïdes de la famille des xanthophylles comme l'astaxanthine et la fucoxanthine ont également montré des activités anti-apoptotique et antiprolifératives (Martin, 2015 ; Kim et al., 2016). Par exemple, la fucoxanthine est un antagoniste du récepteur PXR et peut de cette façon contrer la résistance aux médicaments anticancéreux en augmentant l'apoptose précoce des cellules et en potentialisant l'effet antiprolifératif du cisplatine (Liu et al., 2013). Cependant l'effet des pigments sur la réparation de l'ADN a été très peu étudié. A ce jour une seule publication a montré un effet inhibiteur d'un pigment, l'astaxanthine, sur l'expression de Rad51 (Ko et al., 2016) et aucune n'a étudié la fonctionnalité et/ou la régulation de cette protéine en présence de pigments.

Par des expériences utilisant des techniques de biochimie, biologie cellulaire et moléculaire, le sujet proposé a pour objectif de démontrer que les pigments caroténoïdes tels que la fucoxanthine sont des inhibiteurs de la réparation de l'ADN, d'en comprendre le mécanisme d'action et d'en évaluer le potentiel chimio-sensibilisateur au niveau cellulaire. Cette étude permettra de mettre en évidence de nouvelles applications des pigments de microalgue dans la modulation de la réparation de l'ADN et de découvrir de nouveaux inhibiteurs de la protéine Rad51.

Références bibliographiques

- Collis SJ, Tighe A, Scott SD, Roberts SA, Hendry JH, Margison GP. Ribozyme minigene-mediated RAD51 down-regulation increases radiosensitivity of human prostate cancer cells. *Nucleic Acids Res.* 2001, 29, 1534-1538.
- Farruggia C, Kim MB, Bae M, Lee Y, Pham TX, Yang Y, Han MJ, Park YK, Lee JY. Astaxanthin exerts anti-inflammatory and antioxidant effects in macrophages in NRF2-dependent and independent manners. *J. Nutr. Biochem.* 2018, 62, 202-209.
- Kim SK, Pangestuti R. Biological activities and potential health benefits of fucoxanthin derived from marine brown algae. *Adv. Food Nutr. Res.* 2011, 64, 111-128.
- Kim JH, Park JJ, Lee BJ, Joo MK, Chun HJ, Lee SW, Bak YT. Astaxanthin Inhibits Proliferation of Human Gastric Cancer Cell Lines by Interrupting Cell Cycle Progression. *Gut Liver* 2016, 10, 369-374.

- Ko JC, Chen JC, Wang TJ, Zheng HY, Chen WC, Chang PY, Lin YW. Astaxanthin down-regulates Rad51 expression via inactivation of AKT kinase to enhance mitomycin C-induced cytotoxicity in human non-small cell lung cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 2016, 105, 91-100.
- Liu CL, Lim YP, Hu ML. Fucoxanthin enhances cisplatin-induced cytotoxicity via NFκB-mediated pathway and downregulates DNA repair gene expression in human hepatoma HepG2 cells. *Mar. Drugs* 2013, 11, 50-66.
- Martin LJ. Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. *Mar. Drugs* 2015, 13, 4784-4798.
- Moeller BJ, Arap W, Pasqualini R. Targeting synthetic lethality in DNA damage repair pathways as an anti-cancer strategy. *Curr. Drug Targets* 2010, 11, 1336-1340.
- Ohnishi T, Taki T, Hiraga S, Arita N, Morita T. In vitro and in vivo potentiation of radiosensitivity of malignant gliomas by antisense inhibition of the RAD51 gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998, 245, 319-324.
- Raderschall E, Stout K, Freier S, Suckow V, Schweiger S, Haaf T. Elevated levels of Rad51 recombination protein in tumor cells. *Cancer Res.* 2002, 62, 219-225.
- Renodon-Cornière A, Weigel P, Le Breton M, Fleury F. New potential therapeutic approaches by targeting Rad51-dependent homologous recombination. Book "*DNA Repair - New Research Directions*", 2013, ISBN 980-953-307-746-3, pp 467-488.
- Velic D, Couturier A, Ferreira TM, Poirier G, Fleury F, Masson JY. DNA damage signaling and repair inhibitors: the long-sought-after Achille' heel of cancer. *Biomolecules* 2015, 5, 3204-3259.
- Yasui Y, Hosokawa M, Mikami N, Miyashita K, Tanaka T. Dietary astaxanthin inhibits colitis and colitis-associated colon carcinogenesis in mice via modulation of the inflammatory cytokines. *Chem. Biol. Interact.* 2011, 193, 79-87.