

# Avis de Soutenance

Monsieur Khalil HODROJ

## Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*L'optogénétique au service de l'étude de la pyroptose comme mort immunogène dans le cancer du pancréas*

dirigés par Madame Virginie PETRILLI

Soutenance prévue le **jeudi 11 décembre 2025** à 17h00

Lieu : Salle des conférences de la médiathèque Paul Zech Université Lyon 1

### Composition du jury proposé

Mme Virginie PETRILLI	CNRS Lyon	Directrice de thèse
M. Francois GHIRINGHELLI	Université Bourgogne Europe	Rapporteur
Mme Ilaria CASCONI	Université Paris-Est Créteil	Rapporteuse
M. Thomas WALTER	Université Claude Bernard Lyon 1	Examineur
Mme Cindy NEUZILLET	Université Paris Saclay	Examinatrice
M. Richard TOMASINI	INSERM Marseille	Examineur
Mme Jenny VALLADEAU-GUILEMOND	CRCL	Invitée

**Mots-clés :** pyroptose, cancer du pancréas, optogénétique, immunologie, mort cellulaire,

### Résumé :

L'adénocarcinome canalaire pancréatique (PDAC) est une tumeur hautement agressive caractérisée par un microenvironnement stromal dense, enrichi en fibroblastes et en cellules immunosuppressives. Ces particularités contribuent à sa faible sensibilité aux chimiothérapies conventionnelles et limitent également l'efficacité des traitements par immunothérapie. La pyroptose est une mort cellulaire programmée inflammatoire et lytique, jouant un rôle clé dans la réponse immunitaire innée face aux pathogènes d'origine infectieuse. Elle est médiée par la formation de pores dans la membrane plasmique via le domaine N-terminal des protéines de la famille des gasdermines (GSDMs), activées par clivage de la GSDMD par la caspase-1 ou de la GSDME par la caspase-3. Des données récentes suggèrent que la pyroptose peut activer l'immunité antitumorale et que certaines chimiothérapies peuvent l'induire lorsque la GSDME est exprimée. L'objectif de cette étude est d'examiner si les produits de la pyroptose induite dans des lignées cellulaires de PDAC peut stimuler l'activation des cellules dendritiques de type 1 (cDC1) spécialisée dans la cross-présentation des antigènes. Notre équipe a développé un outil optogénétique, nommé opto-ASC, constitué d'une protéine chimérique dans laquelle le domaine photosensible de CRY2 d'*Arabidopsis thaliana* est fusionné à la protéine ASC (Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD). L'illumination par lumière bleue (488 nm) induit l'oligomérisation de opto-ASC et l'activation de la caspase-1, permettant une induction précise de la pyroptose afin d'en étudier ses effets immunologiques. L'outil opto-ASC a été validé dans des macrophages lors d'une étude précédente,

puis introduit dans deux lignées de cancer pancréatique (Colo357 et SU8686). Nous avons démontré l'induction efficace de la pyroptose dans ces lignées, attestée par le clivage de la GSDMD (Western blot) et par la libération de lactate déshydrogénase (LDH) par dosage enzymatique. Des analyses complémentaires ont mis en évidence la libération d'ATP, d'IL-1 $\alpha$  et de HMGB1—trois marqueurs clés de la mort cellulaire immunogène (ICD)—dans le surnageant des PDAC après pyroptose. Lorsque ces surnageants ont été appliqués à des cellules cDC1 humaines, ils ont significativement augmenté l'expression de marqueurs d'activation tels que CD80, CD86 et le CMH de classe II, en comparaison au contrôle sans traitement et aux surnageant des traitements par chimiothérapie. L'analyse multiplexe des cytokines produites par les cDC1 a révélé une sécrétion accrue de CXCL9 et CXCL10, deux chimiokines connues pour recruter les lymphocytes T CXCR3+. Ces résultats démontrent que la pyroptose induite par l'outil optogénétique dans les cellules de cancer pancréatique active efficacement les cDC1, mettant en lumière une piste prometteuse pour le développement de nouvelles approches d'immunothérapie dans le cancer du pancréas basées sur la pyroptose.