

## Avis de Soutenance

Madame Laura CASTRO DIAS

Biologie cellulaire

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés  
*régulation synergique de la dormance des cellules cancéreuses dans la moelle osseuse par bmp4 et tgfb2 : éclairages mécanistiques et potentiel thérapeutique de la modulation  $\beta$ -adrénergique*

Travaux dirigés par Madame Veronique MAGUER-SATTA

Soutenance prévue le **mercredi 25 mars 2026** à 14h00

Lieu : Amphithéâtre Christophe et Rodolphe Mérieux 28 rue Laennec, 69008 Lyon

### Composition du jury proposé

Mme Veronique MAGUER-SATTA	Directrice de recherche	CNRS Lyon	Directrice de thèse
M. Christophe GINESTIER	Directeur de recherche	INSERM Marseille	Rapporteur
Mme Julie PANNEQUIN	Directrice de recherche	CNRS Montpellier	Rapporteuse
M. Philippe Paul JUIN	Directeur de recherche	INSERM Nantes	Examineur
M. Ulrich VALCOURT	Professeur des universités	Université Claude Bernard Lyon 1	Examineur
Mme Laurence LAFANECHÈRE	Directrice de recherche	CNRS Grenoble	Examinatrice
Mme Valérie CORONAS	Université de Poitiers	Invitée	
Mme Servane TAUSZIG-DELAMASURE	CNRS Lyon	Invitée	

**Mots-clés :** Dormance du cancer, Moelle osseuse, Signaux cellulaires, Therapeutic targeting, Matrice Extracellulaire, Beta-bloquants

### Résumé :

Les rechutes cancéreuses proviennent souvent de cellules tumorales disséminées (CTD) qui entrent en dormance au sein du microenvironnement médullaire avant de se réactiver. Comprendre les signaux moléculaires et microenvironnementaux régulant cet état dormant est essentiel pour prévenir la récurrence métastatique. Mes travaux doctoraux visent à élucider les mécanismes contrôlant la dormance cancéreuse dans la moelle osseuse, en se concentrant sur l'activité synergique de deux cytokines du microenvironnement, BMP4 et TGF $\beta$ 2, ainsi que sur leurs voies de signalisation associées. Dans la première partie de ce travail, nous avons démontré, à l'aide de modèles de culture 2D et 3D complémentaires (cytométrie en flux basée sur le système FUCCI,

culture sur Matrigel et modèle tridimensionnel de moelle osseuse), que BMP4 et TGF $\beta$ 2 agissent en synergie pour augmenter la proportion de cellules de cancer mammaire et prostatique arrêtées en phase G0. L'inhibition pharmacologique et par siRNA de leurs récepteurs a révélé que cette synergie est principalement médiée par BMPR1. Les analyses de séquençage à l'échelle unicellulaire et en vrac de cellules tumorales mammaires humaines et murines ont identifié le collagène17a1 (COL17A1) comme médiateur clé de cet effet inducteur de dormance, validé par extinction génique (siRNA). Par ailleurs, nos résultats indiquent que la signalisation canonique des SMAD n'est pas impliquée dans ce processus ; en revanche, les SMAD inhibiteurs (SMAD7) et leur cofacteur SMURF2 sont régulés positivement après traitement par BMP4/TGF $\beta$ 2. Sur le plan clinique, l'analyse du plasma de patients atteints de cancer de la prostate a révélé un taux de rechute plus faible chez ceux présentant simultanément les deux cytokines, tandis que chez les individus sains, le taux de BMP4 diminuait avec l'âge, suggérant un lien potentiel entre le vieillissement, la perte de cytokines et la réactivation des cellules dormantes. La seconde partie de ma thèse explore les voies de signalisation non canoniques impliquées dans la dormance induite par BMP4/TGF $\beta$ 2 via COL17A1. Plus particulièrement, j'étudie la contribution des complexes mTORC1 et mTORC2, ainsi que le rôle de l'intégrine  $\alpha$ 6 $\beta$ 4 au sein de la structure hémidesmosomale contenant le COL17A1, et son impact sur le remodelage de la matrice extracellulaire (MEC). Étant donné la diminution liée à l'âge des cytokines BMP4, j'évalue également la capacité du propranolol — un  $\beta$ -bloquant déjà utilisé en clinique — à restaurer la dormance en modulant la signalisation mTOR, l'expression de COL17A1 et l'organisation de la MEC. Ces études reposent sur des approches de culture cellulaire comprenant RT-qPCR, Western blot, spectrométrie de masse et extinction génique ciblée. Dans l'ensemble, ce travail met en lumière de nouveaux mécanismes par lesquels la niche médullaire régule la dormance des cellules cancéreuses et propose des pistes thérapeutiques visant à maintenir cet état et prévenir la rechute métastatique par la modulation de la signalisation des cytokines et de l'intégrité du microenvironnement.

### Summary:

Cancer relapse often originates from disseminated tumor cells (DTCs) that enter dormancy within the bone marrow microenvironment and later reactivate. Understanding the molecular and microenvironmental cues regulating this dormant state is essential to prevent metastatic recurrence. My doctoral work investigates the mechanisms underlying cancer dormancy in the bone marrow, focusing on the synergistic activity of two cytokines, BMP4 and TGF $\beta$ 2, and their downstream signaling pathways. In the first part of this work, we demonstrated through complementary 2D and 3D culture systems (including FUCCI-based flow cytometry, Matrigel and bone marrow models) that BMP4 and TGF $\beta$ 2 act synergistically to increase the proportion of G0-arrested mammary and prostate cancer cells. Pharmacological and siRNA-mediated inhibition of their receptors revealed that this synergy primarily signals through BMPR1. Single-cell and bulk RNA sequencing of human and murine mammary tumor cells identified collagen17a1 (COL17A1) as a key mediator of this dormancy-inducing effect, which we validated by siRNA knockdown. Our analyses further indicated that canonical SMAD signaling is not required for this process; instead, the inhibitory SMAD7 and its cofactor SMURF2 were upregulated following BMP4/TGF $\beta$ 2 treatment. Clinically, analysis of human prostate cancer plasma samples showed reduced relapse rates in patients exhibiting concurrent BMP4 and TGF $\beta$ 2 expression, while BMP4 levels decreased with age in healthy donors, suggesting a potential link between aging, cytokine loss, and dormancy escape. The second part of my thesis explores the non-canonical signaling mechanisms involved in BMP4/TGF $\beta$ 2-induced COL17A1-mediated dormancy. Specifically, I investigate the contribution of mTORC1 and mTORC2 pathways, as well as the role of integrin  $\alpha$ 6 $\beta$ 4 within the hemidesmosomal complex containing COL17A1, and its impact on extracellular matrix (ECM) remodeling. Considering the age-related decline in BMP4, I further assess whether pharmacological  $\beta$ -adrenergic blockade with propranolol can restore dormancy by modulating mTOR signaling, COL17A1 expression, and ECM organization. These

studies employ RT-qPCR, Western blotting, mass spectrometry, and siRNA-mediated gene silencing. Together, this work elucidates novel mechanisms by which the bone marrow niche regulates cancer cell dormancy and identifies potential therapeutic strategies to maintain dormancy and prevent metastatic relapse through modulation of cytokine signaling and microenvironmental integrity.