



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

RNAI-based gene therapy of hepatocellular carcinoma: targeting ABC transporters

Borel, F.

Publication date
2012

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Borel, F. (2012). *RNAI-based gene therapy of hepatocellular carcinoma: targeting ABC transporters*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

RÉSUMÉ

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est un cancer primaire du foie, et les patients CHC ont une survie moyenne de seulement 5% à 5 ans après le diagnostic. Ce faible taux de survie a plusieurs causes identifiées, parmi lesquelles la résistance multidrogue aux traitements de chimiothérapie. Ces questions doivent être abordées en vue d'améliorer la gestion du CHC dans le futur.

Dans cette thèse, nous avons cherché à connaître le rôle des transporteurs ABC dans le CHC et tenté de développer des stratégies basées sur l'ARN interférence (ARNi) pour compenser leur dérégulation. Deux stratégies ont été élaborées pour moduler l'expression des transporteurs ABC. La première exploite la régulation endogène des transporteurs ABC par les miARNs cellulaires tandis que la seconde stratégie fait usage de shRNAs et de miARNs artificiels pour obtenir un knock-down de ABCC1 et ABCC2.

Tout d'abord, la surexpression des transporteurs ABC et la sous-expression concomitante des miARNs cellulaires chez les patients CHC non-traités ont été décrits dans le **Chapitre 3**. Cette surexpression concerne 10 transporteurs ABC, à savoir ABCA2, ABCB1, ABCB6, ABCC2, ABCC3, ABCC4, ABCC5, ABCC10, ABCC11 et ABCE1, et suggère que, outre leur rôle de transporteur, les transporteurs ABC pourraient jouer un rôle direct dans le cancer. Ce travail donne pour la première fois un aperçu de l'importance des transporteurs ABC chez des patients CHC non-traités et implique qu'ils pourraient être utilisés à l'avenir en tant que cibles thérapeutiques.

En nous basant sur le profil moléculaire obtenu, nous avons exploré l'hypothèse de la régulation de l'expression des transporteurs ABC par les miARNs cellulaires. Après des prédictions de cibles *in silico*, les nouvelles régulations par les miARNs cellulaires de l'expression de cinq transporteurs ABC, à savoir ABCA1, ABCC1, ABCC5, ABCC10 et ABCE1, ont été confirmées par des tests avec des rapporteurs de la luciférase dans le **Chapitre 3**. La régulation de l'expression de ABCC1, ABCC5, ABCC10, et ABCE1 par les miARNs cellulaires était une conclusion nouvelle qui a un intérêt potentiel pour le CHC. La régulation de l'expression des transporteurs ABC par les miARNs cellulaires a ensuite été validée biologiquement dans le **Chapitre 4**. Nous avons confirmé que le transporteur de cholestérol ABCA1 est régulé par miR-101 et miR-135b tandis que le transporteur multidrogue ABCC1 est régulé par miR-199a/b et miR-296. Ce travail de validation ouvre la perspective d'une approche thérapeutique basée sur les miARNs pour moduler l'expression des transporteurs ABC. Cette approche pourrait être pertinente pour réduire la résistance multidrogue observée pour la plupart des transporteurs ABC mais aussi de réduire l'athérosclérose dans le cas de ABCA1.

Dans le **Chapitre 5**, nous avons exploré une autre approche pour réduire l'expression des transporteurs multidrogues en utilisant des shRNAs ciblant ABCC1 et ABCC2. *In vitro*, les shRNAs développés ont démontré leur capacité à réduire de manière séquence-spécifique et dose-dépendante les transcrits des gènes cibles. De plus, les shRNAs sont correctement transformés en siARNs et n'activent pas la réponse immunitaire. Chez les souris de type sauvage, l'expression de ABCC2 a été considérablement réduite après injection de AAV-shRNA. Toutefois, nous avons observé des toxicités hépatiques dose virale-dépendantes et montré que la surexpression de shRNAs pouvait perturber la machinerie ARNi *in vivo*. Des miARNs artificiels ont ensuite été développés afin de contrecarrer la toxicité et ont démontré une efficacité similaire à celle des shRNAs au niveau de la diminution des transcrits des gènes cibles tout en exprimant moins de molécules siRNAs.

En conclusion, cette recherche a contribué à l'élaboration de deux stratégies basées sur l'ARNi pour compenser la dérégulation des transporteurs ABC dans le CHC. En ce moment, le domaine de l'ARNi est confronté à des challenges liés à des problèmes de toxicité et de spécificité (« off-targeting »). Une fois surmontés, ces problèmes permettront à la technologie de l'ARNi de devenir un traitement de choix pour le diagnostic et la thérapeutique du CHC.