

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-123
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Étude du rôle des récepteurs CXCR4 et ACKR3/CXCR7 dans les récives du glioblastome
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	30/11/2020
Durée du projet (date de début et de fin)	5 ans (30.11.2020 – 30.11.2025)
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	Oui dans 5 ans ou plus tôt si demandé par la commission
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	Glioblastome, récives, cellules initiatrices de glioblastome (GIC), zone sous-ventriculaire, CXCR4, CXCR7, ACKR3.
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : oui/non</p> <p>Recherches translationnelle ou appliquée : oui/non</p> <p>Test réglementaire et production de routine : oui/non</p> <p>Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien-être de l'homme ou de l'animal : oui/non</p> <p>Conservation des espèces : oui/non</p> <p>Enseignement supérieur ou formation : oui/non</p> <p>Enquête médico-légale : oui/non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : oui/non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : oui/non</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	<p>Notre laboratoire a précédemment démontré que certaines cellules de glioblastome (GBM) sont capables de former une tumeur après injection dans le striatum de souris et d'envahir la zone sous-ventriculaire (ZSV). Une fois dans la ZSV, ces cellules de GBM peuvent échapper à une intervention chirurgicale et sont plus résistantes aux traitements tel que la radiothérapie. Nous avons donc émis l'hypothèse que les cellules de GBM logées dans la ZSV pourraient contribuer aux récives tumorales. La migration de ces cellules de GBM est entre autre due à la sécrétion d'une molécule appelée CXCL12, au niveau de la ZSV. CXCL12 est une chimiokine qui se lie à deux récepteurs, CXCR4 et CXCR7 aussi appelé ACKR3. Ces deux récepteurs sont exprimés par les cellules de GBM. Notre équipe a déjà étudié le rôle de CXCR4 dans la migration des cellules de GBM vers la ZSV. Cette étude vise à étudier le rôle du second récepteur, ACKR3, dans cette migration cellulaire.</p>

Quels sont les avantages potentiels susceptibles de découler de ce projet (quelles avancées de la science pourraient-elles être attendues ou comment les humains, les animaux ou les plantes pourraient-ils bénéficier du projet)? (1000 caractères maximum)	Notre laboratoire a été le premier à démontrer cet envahissement préférentiel de la ZSV par les cellules initiatrices de glioblastome (GIC). Ces cellules à distance de la masse tumorale initiale sont donc potentiellement épargnées par la résection chirurgicale. De plus, nous avons également identifié ces cellules de la ZSV comme étant plus résistantes à la radiothérapie. Les mécanismes par lesquels les cellules migrent et développent cette résistance restent cependant en partie non déterminés. En étudiant des protéines susceptibles d'être impliquées dans le phénomène de migration de cellules de GBM dans la ZSV, nous ouvrons la porte sur de nouvelles cibles thérapeutiques. En effet, mieux comprendre les mécanismes par lesquels les GIC échappent aux thérapies nous permettra par la suite de les cibler plus efficacement. Ceci a d'autant plus d'importance sachant que les cellules ayant migré dans la ZSV sont les cellules potentiellement responsables des récurrences quasi systématiquement observées dans les cas de GBM, et qui conditionnent la survie limitée des patients atteints d'un GBM (survie allant de 12 à 15 mois en moyenne après le diagnostic et ce, malgré le traitement associant chirurgie, radiothérapie chimiothérapie).
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	<ul style="list-style-type: none"> • Mus Musculus Domesticus, Swiss Nude Mice (CrI:NU(lco)-Foxn1nu, strain 620)
Quel est le nombre maximal d'animaux ?	394 souris
Dans le contexte de ce qui est fait aux animaux, quels sont <u>les effets négatifs attendus</u> sur les animaux, <u>le niveau de gravité</u> probable ou attendu et <u>le sort</u> des animaux?	Les expériences consisteront à injecter une quantité définie de cellules de GBM dans le striatum droit de souris. Les expériences préliminaires nous ont permis de déterminer les différents temps après lesquels les cellules migrent dans la ZSV. En effet, selon le type cellulaire de GBM utilisé, des temps différents sont nécessaires pour que les cellules de GBM puissent atteindre la ZSV. Après ces temps respectifs, les souris seront sacrifiées. Parmi les effets négatifs que nous avons notés lors de nos expériences précédentes, nous observons que lorsque la tumeur atteint une taille significative, ceci peut engendrer une augmentation de la pression intracrânienne. Dans ce cas, nous observons une diminution nette de l'activité motrice des souris qui restent alors prostrées dans un coin de la cage et une augmentation de leur rythme respiratoire. Ceci s'accompagne également d'une perte de poids. Les souris seront euthanasiées dès que l'on note une perte de poids rapide allant jusqu'à 20% ou qu'elles montrent ces signes d'hypertension intracrânienne.
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	Nous avons utilisé les études <i>in vitro</i> tant que possible avant de poursuivre nos expériences <i>in vivo</i> . De plus, si possible, nous avons utilisé des tests clonogéniques et des cultures 3D (en sphères) pour obtenir des informations dans un modèle plus proche de l' <i>in vivo</i> sans utiliser d'animaux.

<p>Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées</p>	<p>Avant de réaliser les expériences <i>in vivo</i>, nous aurons utilisé des modèles <i>in vitro</i> (cellules de GBM humain) et nous aurons étudié du tissu humain de GBM afin de valider notre hypothèse de départ.</p> <p>Cependant, certains tests fonctionnels ne peuvent être réalisés que dans un modèle <i>in vivo</i>. En effet, la capacité des cellules de GBM à former une tumeur en présence d'un micro-environnement présent dans le tissu cérébral et l'étude de leur capacité de migration dans une zone neurogénique spécifique après modulation de l'expression de ACKR3 dans la ZSV, ne peuvent être réalisés que dans un modèle <i>in vivo</i> de greffe orthotopique.</p>
<p>2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie</p>	<p>Pour chaque expérience, nous avons eu recours à des méthodes statistiques, tel que l'utilisation de G-power, afin de calculer un nombre précis d'animaux nécessaires, nous permettant de répondre aux différentes questions de notre projet.</p> <p>De plus, notre laboratoire travaille avec ce modèle depuis plus de 10 ans. Notre équipe a donc l'expertise nécessaire pour que ces expériences soient réalisées soigneusement, avec un minimum de perte d'animaux durant les interventions chirurgicales et une utilisation optimale des échantillons qui seront prélevés chez les animaux de nos expériences.</p>
<p>3. Raffinement (1000 caractères maximum) Expliquez le choix des espèces animales et pourquoi le(s) modèle(s) animal(aux) utilisé(s) sont les plus raffinés, eu égard aux objectifs scientifiques</p>	<p>Le modèle de greffe de GBM utilisé dans nos expériences <i>in vivo</i> a été développé et utilisé dans notre équipe depuis près de 10 ans. Dans le cadre de ce dossier, nous utiliserons une seule espèce : les souris <i>Nude Crl:NU(lco)-Foxn1nu</i>. Dans le premier axe du projet, l'expression du récepteur ACKR3 sera comparée entre les cellules de GBM de la masse tumorale et celles qui auront migré dans la ZSV. Pour le deuxième objectif, nous utiliserons un virus pour moduler l'expression de ACKR3 dans les cellules de la ZSV et nous étudierons l'effet sur la migration des cellules de GBM de la masse tumorale vers la ZSV. L'utilisation de cellules humaines de GBM plutôt que de cellules murines, nous permet d'être plus proches de la réalité. Par contre, cette approche nécessite l'utilisation de souris <i>Nude</i>, c'est-à-dire qui ne possèdent pas de système immunitaire entièrement fonctionnel pour ne pas provoquer de rejet de la greffe.</p>
<p>Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).</p>	<p>Les animaux seront anesthésiés selon les normes recommandées (10/80 mg/Kg de Xylazine/Kétamine). De plus, nous prenons bien soin de monitorer les animaux avant l'intervention, pour être certains qu'ils sont bien endormis mais surtout qu'ils ne perçoivent plus la douleur. Ceci est vérifié en observant les réflexes suite au pincement des pattes arrières. Dès que l'animal est endormi, une crème ophtalmique (Fucithalmic) est appliquée pour protéger leurs yeux d'un éventuel assèchement. De plus, nous nous assurons que les souris maintiennent leur température corporelle en utilisant des coussins chauffants et des lampes chauffantes. Le poids des souris est monitoré et la perte de 20% du poids initial ainsi que l'observation du comportement sont des points limites qui nous indiquent si une souris doit être euthanasiée.</p>