

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

SUBVENTION

de recherche en neuro-oncologie

ANNEE 2010



Dossier de candidature

Association des Neuro-Oncologues d'Expression Française

- ANOCEF -

Contact : martine.lionnet@chu-lyon.fr

Titre du projet de recherche	Le rôle oncogénique des mutations du domaine de transactivation de Notch dans les épendymomes de l'enfant
-------------------------------------	---

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

I – Renseignements administratifs sur le porteur du projet

Joindre un curriculum vitae détaillé du porteur de projet ainsi qu'une liste des publications significatives de son équipe sur les 5 dernières années.

NOM du porteur de projet	DUFOUR
---------------------------------	--------

Prénom	Christelle
---------------	------------

Adresse de correspondance	Département de Cancérologie de l'Enfant et de l'Adolescent Institut Gustave Roussy 114 rue Edouard Vaillant 94805 VILLEJUIF Cedex www.cancerenfants.fr
----------------------------------	--

Téléphone	01-42-11-42-47
------------------	----------------

Fax	01-42-11-52-75
------------	----------------

E-mail	christelle.dufour@igr.fr
---------------	--

Titres	Docteur en médecine, Pédiatrie, MD
---------------	------------------------------------

Fonctions	Praticien Hospitalier Spécialiste des Centres de Lutte Contre le Cancer
------------------	---

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

NOM du laboratoire	CNRS UMR 8203
---------------------------	---------------

Adresse du laboratoire	Institut Gustave Roussy 114 rue Edouard Vaillant 94805 VILLEJUIF Cedex
-------------------------------	--

Thématique(s)	« Cibles thérapeutiques et nouveaux médicaments pour les tumeurs du système nerveux de l'enfant » de l'Unité de Recherche CNRS UMR 8203 « Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses »
----------------------	--

Ne pas oublier de joindre l'annexe A remplie

II – Renseignements administratifs sur le candidat (en cas de financement dédié)

Joindre un curriculum vitae détaillé ainsi qu'une liste des publications significatives des 5 dernières années.

NOM du candidat	Ferreira
------------------------	----------

Prénom	Céline
---------------	--------

Adresse de correspondance	33 rue Robert Lindet, 75015 Paris, France
----------------------------------	---

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

Téléphone	+33 (0) 668 422 464
------------------	---------------------

Fax	+33 (0) 142 115 275
------------	---------------------

E-mail	celine.ferreir@gmail.com
---------------	--------------------------

NOM du laboratoire d'accueil	« Cibles thérapeutiques et nouveaux médicaments pour les tumeurs du système nerveux de l'enfant » de l'Unité de Recherche CNRS UMR 8203 « Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses »
-------------------------------------	--

Adresse du laboratoire d'accueil	Institut Gustave Roussy 114 rue Edouard Vaillant 94805 VILLEJUIF Cedex
---	--

NOM du responsable du laboratoire	Dr Birgit Georger, MD, PhD; Dr Jacques Grill, MD, PhD
--	---

III – Résumé du projet

Titre du projet de recherche	Le rôle oncogénique des mutations du domaine de transactivation de Notch dans les épendymomes de l'enfant
-------------------------------------	---

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

Résumé en trois parties : contexte scientifique (max. 1000 caractères), descriptif du projet (max. 2000 caractères) et résultats attendus (max. 1000 caractères).

CONTEXTE SCIENTIFIQUE :

L'épendymome est une des tumeurs cérébrales les plus fréquents chez l'enfant. La chirurgie , même lorsqu'elle est complète, ne permet pas de guérir les enfants à elle seule. Ces tumeurs sont très résistantes à la chimiothérapie et à la radiothérapie. Il n'y a aucun médicament très efficace spécifique pour cette tumeur. Notre équipe a démontré pour la première fois dans l'épendymome le rôle d'une voie de prolifération contrôlée par la protéine NOTCH-1. Nous avons même retrouvé des mutations très particulières dans un domaine de cette protéine impliquée dans la liaison à l'ADN (Puget et al, JCO, 2009). Chez un patient au moins, la même mutation était présente au niveau germinale. Jusqu'à présent, on ne connaissait aucun oncogène muté dans cette maladie. Il nous faut maintenant comprendre comment cette mutation modifie le comportement de la cellule épendymaire pour pouvoir contrecarrer son développement tumoral de la manière la plus efficace.

DESCRIPTIF DU PROJET :

Le projet vise à introduire des gènes codant pour les différentes formes mutées rencontrées dans les tumeurs des patients, pour comprendre comment s'opère la transformation tumorale, quels gènes effecteurs sont impliqués, quelles propriétés cellulaires sont gagnées ou perdues, et quelles sont les conséquences in vivo sur la tumorigenicité. Le projet fera appel à des techniques de clonage avec mutation dirigée et des techniques de transfection dans des lignées cellulaires, de test de prolifération et de transformation in vitro et de tumorigénèse in vivo, d'immunoprécipitation de la chromatine avec séquençage et de microarray d'expression. En outre, nous compléterons le séquençage des mutations constitutionnelles éventuelles chez les patients et leurs familles.

RESULTATS ATTENDUS :

Cette étude devrait nous permettre de vérifier si les mutations que nous avons décrites correspondent à un syndrome de prédisposition à l'épendymome, ce qui n'a jamais été décrit

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

jusqu'ici. Et en comprenant mieux le rôle et le fonctionnement de cette protéine, nous espérons pouvoir découvrir la meilleure façon de bloquer cette voie de prolifération dans les épendymome de l'enfant.

Mots clés

Ependymome, NOTCH-1, transformation tumorale

IV – Présentation du projet

Maximum 10 pages, police Arial 11 pts, interligne 1,5

Description du projet à rédiger en français :

- contexte et justification du projet
- objectifs
- méthodologie, description des étapes
- faisabilité, perspectives et résultats attendus
- date de mise en œuvre prévue et durée approximative envisagée
- bibliographie (15 références maximum, format Vancouver, numérotées par ordre d'apparition dans le texte)

Contexte et justification du projet

L'épendymome est l'une des tumeurs cérébrales pédiatriques les plus fréquentes. Le pronostic de ces tumeurs reste sombre, particulièrement chez les enfants les plus jeunes, avec une survie à 5 ans comprise entre 50 et 60%, principalement en raison de la résistance à la chimiothérapie et radiothérapie (1). Le traitement initial reste donc la chirurgie, et la qualité de la résection le seul facteur pronostic identifié (2). Le mécanisme d'oncogenèse des épendymomes est encore inconnu et il n'existe pas de chimiothérapie spécifique ni de syndrome de prédisposition décrit. Cependant, ces dernières années, plusieurs travaux mettent en évidence l'implication de la voie de signalisation Notch dans l'oncogenèse des épendymomes (3-5) et des gliomes (6-9). Des gains de copies de la région du gène NOTCH-1 ont été décrits dans les différents types d'épendymomes pédiatriques (5,19). Cette voie est originale puisqu'elle ne fait pas appel à des messagers secondaires pour transduire le signal : après activation du récepteur transmembranaire Notch par son ligand, lui-même fixé sur la membrane d'une autre cellule, la partie intracellulaire du récepteur est libérée et va agir directement dans le noyau en activant la transcription de gènes

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

cibles. Cette voie de signalisation joue des rôles très divers et extrêmement dépendants du contexte cellulaire. Notch-1 est habituellement considéré comme un oncogène dans les tumeurs cérébrales mais est également impliqué dans le développement cérébral normal en contrôlant la différenciation des cellules gliales et le maintien d'un pool de cellules souches neurales. Notre groupe a récemment mis en évidence des mutations somatiques dans le domaine intracellulaire de Notch-1 chez des patients atteints d'épendymomes pédiatriques (5). Contrairement aux leucémies T, pour lesquelles les mutations de Notch-1 sont principalement localisées dans les domaines PEST et d'hétérodimérisation (HD), les mutations présentes dans les épendymomes sont principalement retrouvées dans le domaine de transactivation (TAD) de la protéine. De la même façon, des mutations de Notch-1 ont également été décrites dans des glioblastomes de l'adulte et sont aussi présentes dans le domaine de transactivation (10). De plus, nous avons trouvé une expression plus importante de la voie Notch à la rechute, comparativement au diagnostic dans les épendymomes (20).

Le domaine de transactivation n'est pas une région conservée au cours de l'évolution, ni entre les quatre formes du récepteur Notch existant chez les mammifères, ce qui pourrait expliquer l'activation de groupes de gènes différents en fonction des isoformes (11). Kurooka *et al.* montrent que chez la souris l'activité du domaine de transactivation de Notch-1 (RAMIC) est réprimé par la fusion du domaine de transactivation avec RBP-J à cause de la présence d'un complexe de co-répresseurs qui peuvent être déplacés par le domaine RAM ou les répétitions ANK (12). Le domaine murin RAMIC est composé de trois domaines fonctionnels: le domaine RAM, les répétitions ANK impliquées dans la fixation à RBP-J et dans le déplacement du complexe de co-répresseurs et le domaine de transactivation C-terminal. Il a été montré que le domaine de transactivation s'associe avec les co-activateurs transcriptionnels PCAF and GCN5 (13). On peut donc supposer que les mutations retrouvées dans le domaine de transactivation altèrent l'activité transcriptionnelle de Notch-1.

Dans nos deux études préliminaires, nous avons montré que l'activation de la voie de signalisation de Notch est très fréquente dans les épendymomes pédiatriques (5). Cette activation intervient selon différents mécanismes : le gain d'une ou plusieurs copies de la région contenant Notch-1 dans plus de la moitié des échantillons lors de la récurrence, la down-régulation de la transcription de FBXW7 impliqué dans l'ubiquitination et donc la destruction de Notch-1, ou la sur-expression des ligands de Notch-1 (notamment DLL-1). Nous avons également mis en évidence que l'inhibition de la voie de signalisation Notch avec un inhibiteur de gamma-sécrétase bloque la prolifération de cellules souches dérivées d'épendymomes. Le séquençage des points chauds de mutations de Notch-1 de 76 échantillons a permis de mettre en évidence des mutations dans plus 10% des patients, principalement mais pas exclusivement dans les épendymomes infratentoriaux. Chez une

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

patiente atteinte d'un épendymome supratentoriel, nous avons même trouvé deux mutations dans le domaine TAD. Ces mutations changent les acides aminés d'une façon importante engendrant probablement une modification conformationnelle de la protéine et n'ont pas été décrites comme des polymorphismes. Il nous reste à démontrer qu'elles modifient significativement l'activité de la protéine.

Tableau 1 - Mutations de NOTCH1 trouvées dans les épendymomes

Patients	Localisation	Echantillon	Amino-acide muté	Domaine
TRISO	Infratentorielle	Récidive 1	V1671I	HD-C
TRISO	Infratentorielle	Récidive 2	V1671I	HD-C
ZOCMA	Infratentorielle	Diagnostic	A2279V	TAD
ZOCMA	Infratentorielle	Récidive	A2279V	TAD
SANPA	Infratentorielle	Diagnostic	G2152R	TAD
SANPA	Infratentorielle	Récidive	G2152R	TAD
SANPA	Infratentorielle	Sang	G2152R	TAD
SCHLA	Supratentorielle	Récidive	V2285I + Q2343L	TAD

Nous pensons que les mutations de Notch-1 sont un évènement précoce dans l'oncogenèse des épendymomes car les mutations sont également présentes lors du diagnostic. Il pourrait même s'agir d'un syndrome de prédisposition puisque, chez l'un des patients (SANPA), la mutation est constitutionnelle. La comparaison des niveaux d'expression des principaux gènes de la voie de signalisation par qPCR (c-myc, HES1, HEY1) n'a pour l'instant pas montré de différence de niveau des gènes cibles de Notch-1 pour les tumeurs présentant une mutation dans le domaine de transactivation.

La dérégulation de l'activité de transactivation de Notch-1 pourrait également être impliquée dans certains glioblastomes (où les mutations décrites sont aussi dans le domaine TAD), dans les leucémies T, où 3 à 5% des mutations interviennent dans le domaine de transactivation (14), et la leucémie mégacaryoblastique via l'effet de la protéine de fusion OTT-MAL qui interfère avec l'activité transactivatrice de Notch-1 (15-17).

Il est donc important de déterminer le rôle de ces altérations sur le complexe de transcription de Notch-1 pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques dans ces pathologies.

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

Objectif

Quelle est la contribution des mutations du domaine de transactivation de Notch-1 dans l'oncogenèse des épendymomes pédiatriques et des autres gliomes?

Méthodologie et description des étapes

Poursuite des études génétiques chez les patients

Les mutations déjà identifiées dans les échantillons tumoraux seront recherchées sur l'ADN constitutionnel des patients, et éventuellement dans les familles (ABI 3730 DNA Analyser from Applied Biosystems). De plus, nous compléteront la recherche de mutation de Notch dans une série plus grande d'épendymomes de l'enfant et de l'adulte.

La comparaison de l'expression des autres gènes cibles connus de Notch (par exemple TNC) sera poursuivie par qPCR dans des échantillons tumoraux présentant ou non des mutations de Notch-1.

Pouvoir transformant des mutations in vitro et in vivo

Nous utiliserons la mutagenèse dirigée sur un plasmide dans lequel a été cloné Notch-1 entier (don du Dr Thomas Mercher, INSERM U985, Villejuif avec qui nous collaborons) pour reproduire les mutations observées chez les patients.

Des lignées de cellules souches neurales (ReNcell®VM Neural Stem Cell Line, Millipore™) d'astrocytes (cell line HAST O40, Clonexpress, Inc) ainsi qu'une lignée de gliome pédiatrique bien caractérisée (17) seront transfectées avec les vecteurs d'expression de Notch-1 portant les mutations. Nous utiliserons aussi des lignées habituellement testées pour montrer la tumorigénèse d'un oncogène comme NIH3T3 et 293 par exemple.

L'effet transformant des mutations sera ensuite évalué par des tests standards sur les lignées transfectées: test de prolifération (MTS et comptage cellulaire), test de croissance indépendante de l'ancrage en agar mou pour les astrocytes et les cellules souches neurales, et test d'invasion grâce au modèle des sphéroïdes qui a été développé précédemment au laboratoire (18). Brièvement, les cellules cultivées sous forme de sphéroïdes sur des supports non adhérents (sur gel d'agarose) sont ensuite disposées sur des puits simples adhérents. Le sphéroïde s'attache alors à la plaque et les cellules tumorales se dispersent autour du sphéroïde; on mesure alors le diamètre de la couronne de cellules tumorales autour du sphéroïde. Alternativement, on utilisera aussi un scratch-test plus classique.

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

Enfin, la tumorigenicité sera évaluée in vivo en injectant les différentes lignées transfectées à des souris nudes ou NOD-SCID.

Etude du complexe de transcription de Notch-1 et de ses interactions avec l'ADN

Nous proposons deux approches complémentaires non exclusives. Tout d'abord, les profils d'expression des lignées transfectées avec les différentes constructions (Notch-1 mutants et sauvages) seront comparés pour mettre en évidence les gènes présentant des changements d'expression significatifs ($\log \text{ ratio} > 2$), à l'aide de puces à ADN (Agilent 44K dual color) et de puces microRNA (Agilent miRNA Microarray kit V2) qui seront ensuite confirmées par qPCR. Compte-tenu des actions également suppressives de tumeur de Notch-1 (en transactivant p21 par exemple), nous étudierons particulièrement les modifications d'expression de ces types de gènes. Ceci nous renseignera sur les modifications directes et indirectes de l'expression génique sur l'ensemble du génome. Ensuite, nous confirmerons par immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) suivie de qPCR les gènes précédemment identifiés afin de définir ceux dont l'expression est directement induite par la modification de Notch-1. En comparaison avec les résultats obtenus avec la forme sauvage, on pourra aussi déduire les gènes dont la transactivation par Notch-1 est perdue.

Les différentes protéines impliquées dans le complexe de transcription de Notch-1 susceptible de subir également des modifications induites par les mutations du domaine de transactivation sera analysé par immunoprécipitation.

Enfin, nous utiliserons la technique d'immunoprécipitation de la chromatine suivie du séquençage de l'ADN lié (ChIP-seq) pour découvrir de façon non biaisée les nouvelles séquences d'ADN sur lesquels les protéines Notch-1 mutées sont liées. Nous profiterons pour cela de la nouvelle plateforme de séquençage installée à l'Institut de Cancérologie Gustave Roussy sous la responsabilité du Dr Philippe Dessen.

Faisabilité, perspectives et résultats attendus

Nous (et d'autres) avons montré que la surexpression de la forme sauvage du fragment intracellulaire de Notch-1 dans les cellules souches normales entraîne leur transformation et leur prolifération rapide. Nous avons donc choisi d'utiliser un plasmide avec le gène complet. Les expériences de "Go / No Go" sont en cours avec les premiers mutants de Notch-1 clonés pour vérifier leur habilité à transformer les cellules non-cancéreuses. Notre collaboration avec le groupe d'hématologie du Dr Thomas Mercher sur le même site nous permettra d'avancer plus rapidement sur les techniques complexes de ChIP simple, ChIP-qPCR et ChIP-seq notamment. Son groupe

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

étudie le rôle du complexe de transactivation de Notch dans l'hématopoïèse normale et dans la leucémie.

Nous avons choisi de travailler aussi avec des cellules souches neurales normales et avec des astrocytomes normaux car nous postulons que le contexte cellulaire dans lequel la transactivation par Notch-1 se produit doit avoir une grande importance.

Nos résultats publiés sur le gain de la région de Notch-1 en 9q33-34 dans les épendymomes l'année dernière par notre équipe dans le Journal of Clinical Oncology ont été confirmés cette année par les travaux de celle de Richard Glibertson aux USA (19) et par celle de Stefan Pfister en Allemagne (21). Les gains du chromosome 9 sont aussi retrouvés dans les épendymomes de l'adulte et cela justifie que notre recherche de mutations de Notch-1 soit étendue aux formes cérébrales de l'adulte (22). Des contacts ont été pris avec l'équipe du Pr J.Y. Delattre avec qui nous avons déjà collaboré pour les gliomes malins de l'enfant (De Carli et al, New Engl J Med 2009 et manuscrits en préparation).

Si nous réussissons à confirmer le rôle oncogénique de ces mutations de Notch-1 dans les épendymomes (et éventuellement dans d'autres gliomes) et notamment de celle(s) qui sont constitutionnelles, nous pourrions décrire le premier syndrome de prédisposition à l'épendymome chez l'enfant. En décrivant les modifications physiologiques induites par ces mutations, nous pourrions proposer des associations thérapeutiques combinant des stratégies de blocage de l'activation de Notch-1 (inhibiteurs des gamma-sécrétases) et des protéines codées par les gènes cibles principaux de Notch-1 sauvage et muté dans le contexte des épendymomes.

Date de mise en œuvre prévue et durée approximative envisagée

Étape	Calendrier
Poursuite des études génétiques chez les patients	Septembre-Décembre 2010
Pouvoir transformant des mutations in vitro et in vivo	Automne – Printemps 2010
Etude du complexe de transcription de Notch-1 et de ses interactions avec l'ADN	Janvier –Décembre 2011

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

Références

1. Grill J, Chastagner P, Kalifa C. 2003. Childhood ependymoma: a systematic review of treatment options and strategies. *Paediatr Drugs* 5: 533-43.
2. Grill J, Le Deley MC, Gambarelli D, Raquin MA, Couanet D, Pierre-Kahn A, Habrand JL, Doz F, Frappaz D, Gentet JC, Edan C, Chastagner P, Kalifa C. 2001. Postoperative chemotherapy without irradiation for ependymoma in children under 5 years of age: a multicenter trial of the French Society of Pediatric Oncology. *J Clin Oncol* 19: 1288-96.
3. Taylor MD, Poppleton H, Fuller C, Su X, Liu Y, Jensen P, Magdaleno S, Dalton J, Calabrese C, Board J, Macdonald T, Rutka J, Guha A, Gajjar A, Curran T, Gilbertson RJ. 2005. Radial glia cells are candidate stem cells of ependymoma. *Cancer Cell* 8: 323-35.
4. Modena P, Lualdi E, Facchinetti F, Veltman J, Reid JF, Minardi S, Janssen I, Giangaspero F, Forni M, Finocchiaro G, Genitori L, Giordano F, Riccardi R, Schoenmakers EF, Massimino M, Sozzi G. 2006. Identification of tumor-specific molecular signatures in intracranial ependymoma and association with clinical characteristics. *J Clin Oncol* 24: 5223-33.
5. Puget S, Grill J, Valent A, Bieche I, Dantas-Barbosa C, Kauffmann A, Dessen P, Lacroix L, Georger B, Job B, Dirven C, Varlet P, Peyre M, Dirks PB, Sainte-Rose C, Vassal G. 2009. Candidate genes on chromosome 9q33-34 involved in the progression of childhood ependymomas. *J Clin Oncol* 27: 1884-92.
6. Purow BW, Haque RM, Noel MW, Su Q, Burdick MJ, Lee J, Sundaresan T, Pastorino S, Park JK, Mikolaenko I, Maric D, Eberhart CG, Fine HA. 2005. Expression of Notch-1 and its ligands, Delta-like-1 and Jagged-1, is critical for glioma cell survival and proliferation. *Cancer Res* 65: 2353-63.
7. Brennan C, Momota H, Hambardzumyan D, Ozawa T, Tandon A, Pedraza A, Holland E. 2009. Glioblastoma subclasses can be defined by activity among signal transduction pathways and associated genomic alterations. *PLoS One* 4: e7752.
8. Zhang XP, Zheng G, Zou L, Liu HL, Hou LH, Zhou P, Yin DD, Zheng QJ, Liang L, Zhang SZ, Feng L, Yao LB, Yang AG, Han H, Chen JY. 2008. Notch activation promotes cell proliferation and the formation of neural stem cell-like colonies in human glioma cells. *Mol Cell Biochem* 307: 101-8.
9. Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, Forrest WF, Soriano RH, Wu TD, Misra A, Nigro JM, Colman H, Soroceanu L, Williams PM, Modrusan Z, Feuerstein BG, Aldape K. 2006. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell* 9: 157-73.

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

10. 2008. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 455: 1061-8.
11. Kraman M, McCright B. 2005. Functional conservation of Notch1 and Notch2 intracellular domains. *Faseb J* 19: 1311-3.
12. Kurooka H, Kuroda K, Honjo T. 1998. Roles of the ankyrin repeats and C-terminal region of the mouse notch1 intracellular region. *Nucleic Acids Res* 26: 5448-55.
13. Kurooka H, Honjo T. 2000. Functional interaction between the mouse notch1 intracellular region and histone acetyltransferases PCAF and GCN5. *J Biol Chem* 275: 17211-20.
14. Asnafi V, Buzyn A, Le Noir S, Baleyrier F, Simon A, Beldjord K, Reman O, Witz F, Fagot T, Tavernier E, Turlure P, Leguay T, Huguet F, Vernant JP, Daniel F, Bene MC, Ifrah N, Thomas X, Dombret H, Macintyre E. 2009. NOTCH1/FBXW7 mutation identifies a large subgroup with favorable outcome in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): a Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (GRAALL) study. *Blood* 113: 3918-24.
15. Mercher T, Cornejo MG, Sears C, Kindler T, Moore SA, Maillard I, Pear WS, Aster JC, Gilliland DG. 2008. Notch signaling specifies megakaryocyte development from hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* 3: 314-26.
16. Mercher T, Raffel GD, Moore SA, Cornejo MG, Baudry-Bluteau D, Cagnard N, Jesneck JL, Pikman Y, Cullen D, Williams IR, Akashi K, Shigematsu H, Bourquin JP, Giovannini M, Vainchenker W, Levine RL, Lee BH, Bernard OA, Gilliland DG. 2009. The OTT-MAL fusion oncogene activates RBPJ-mediated transcription and induces acute megakaryoblastic leukemia in a knockin mouse model. *J Clin Invest* 119: 852-64.
17. Bax DA, Little SE, Gaspar N, Perryman L, Marshall L, Viana-Pereira M, Jones TA, Williams RD, Grigoriadis A, Vassal G, Workman P, Sheer D, Reis RM, Pearson AD, Hargrave D, Jones C. 2009. Molecular and phenotypic characterisation of paediatric glioma cell lines as models for preclinical drug development. *PLoS One* 4: e5209.
18. **Grill J, Lamfers ML, van Beusechem VW, Dirven CM, Pherai DS, Kater M, Van der Valk P, Vogels R, Vandertop WP, Pinedo HM, Curiel DT, Gerritsen WR. 2002. The organotypic multicellular spheroid is a relevant three-dimensional model to study adenovirus replication and penetration in human tumors in vitro. *Mol Ther* 6: 609-14.**
19. Johnson RA, Wright KD, Poppleton H, Mohankumar KM, Finkelstein D, Pounds SB, Rand V, Leary SE, White E, Eden C, Hogg T, Northcott P, Mack S, Neale G, Wang YD, Coyle B, Atkinson J, Dewire M, Kranenburg TA, Gillespie Y, Allen JC, Merchant T, Boop FA, Sanford RA, Gajjar A, Ellison DW, Taylor MD, Grundy RG, Gilbertson RJ. 2010. Cross-species genomics matches driver mutations and cell compartments to model ependymoma. *Nature* Jul 18 (Epub ahead of print).

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

20. Peyre M, Commo F, Dantas-Barbosa C, Andreiuolo F, Puget S, Lacroix L, Drusch F, Scott V, Varlet P, Mauguén A, Dessen P, Lazar V, Vassal G, Grill J. Portrait of ependymoma recurrence in children: molecular markers of tumor progression identified by dual-color microarray-based gene expression analysis. *PloS ONE (in press)*.
21. Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Benner A, Remke M, Ryzhova M, Milde T, Bender S, Wittmann A, Schmittler A, Kulozik AE, Witt O, von Deimling A, Lichter P, Pfister S. 2010. Molecular staging of intracranial ependymoma in children and adults. *J Clin Oncol*. 28(19):3182-90.
22. Rousseau A, Idbah A, Ducray F, Crinière E, Fèvre-Montange, Jouvét A, Delattre JY. 2010. Specific chromosomal imbalances as detected by array CGH in ependymomas in association with tumor location, histological subtype and grade. *J Neuro-Oncol* 97(3):353-364.

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

IV – Informations financières

Descriptif détaillé de l'utilisation du montant de la subvention

	Coût total (€ TTC)	dont financement (€ TTC)
Frais de personnel	20.000	20.000
Matériel	84.000	0
Frais de déplacement	5.000	0
Autres (à préciser)	0	0
COUT TOTAL DU PROJET	109.000	20.000

Financements déjà acquis ou attendus

Provenances	Date d'effet	Montants
FRM	Attendu (Janvier 2011)	80.000 sur 2 ans
Ligue (IDF)	Attedu (Janvier 2011)	50.000 sur 2 ans
Centre de Recherche sur les Tumeurs de l'Enfant (IGR)	Acquis	50.000 sur 1 an

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

Renseignements sur le correspondant administratif de l'établissement percevant les fonds

NOM du correspondant	Beuchet
-----------------------------	---------

Prénom	Pierre
---------------	--------

Adresse	Institut Gustave Roussy 114 rue Edouard Vaillant 94805 VILLEJUIF Cedex
----------------	--

Téléphone	01-42-11-45-56
------------------	----------------

Fax	01-42-11-53-11
------------	----------------

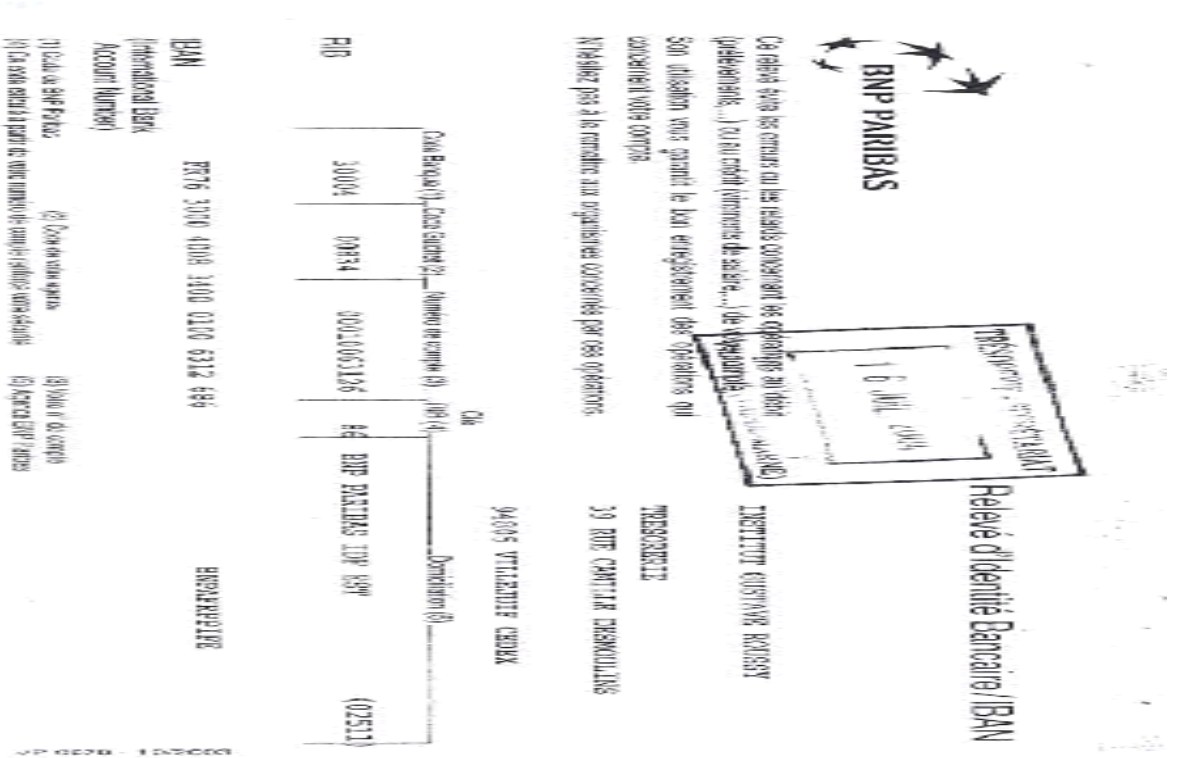
E-mail	Pierre.beuchet@igr.fr
---------------	--

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

Références bancaires

Joindre un RIB



Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

IV – Annexes

A – Composition et statut des personnes directement impliquées dans le projet

Nom, Prénom	Emploi actuel	% du temps de recherche consacré au projet	Laboratoire ou équipe de rattachement
Grill, Jacques	Médecin des Centres de Lutte contre le Cancer, Praticien Hospitalier Spécialiste des Centres de Lutte Contre le Cancer ; Responsable au sein du comité « Tumeurs Cérébrales » du Programme Gliome de Bas Grade de la SFCE	10%	Département de Cancérologie de l'Enfant et de l'Adolescent
Céline Ferreira	Doctorante	100%	« Cibles thérapeutiques et nouveaux médicaments pour les tumeurs du système nerveux de l'enfant » de l'Unité de Recherche CNRS UMR 8203 « Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses
Dufour, Christelle	Médecin des Centres de Lutte contre le Cancer, Praticien Hospitalier	10%	Département de Cancérologie de l'Enfant et de l'Adolescent
Dantas-Barbosa, Carmela	Chercheuse contractuelle	20%	« Cibles thérapeutiques et nouveaux médicaments pour les tumeurs du système nerveux de l'enfant » de l'Unité de Recherche CNRS UMR 8203 « Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses
Andreiuolo, Felipe	Doctorant	20%	« Cibles thérapeutiques et nouveaux médicaments pour les tumeurs du système nerveux de l'enfant » de l'Unité de Recherche CNRS UMR 8203 «

Subvention de recherche en neuro-oncologie

Dossier de candidature

			Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses
Philippe, Cathy	Ingénieure Bioinformaticienne	25%	« Cibles thérapeutiques et nouveaux médicaments pour les tumeurs du système nerveux de l'enfant » de l'Unité de Recherche CNRS UMR 8203 « Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses
Dieffenbach, Geoffray	Technicien	30%	« Cibles thérapeutiques et nouveaux médicaments pour les tumeurs du système nerveux de l'enfant » de l'Unité de Recherche CNRS UMR 8203 « Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses