

# Avis de Soutenance

Madame Virginie BARBET

Biologie cellulaire

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Développement de modèles 3D innovants de Rhabdomyosarcomes afin d'identifier les mécanismes de résistance à la mort cellulaire et d'établir de nouvelles stratégies thérapeutiques*

Travaux dirigés par Madame Laura BROUTIER

Soutenance prévue le **mardi 23 juin 2026** à 15h00

Lieu : Salle des Thèses - Site Rockefeller 8 Avenue Rockefeller 69008 Lyon Bâtiment principal  
Rockefeller, 1er étage

## Composition du jury proposé

Mme Laura BROUTIER	Chargée de recherche	INSERM Lyon	Directrice de thèse
M. Raphael MORSCHER	Chercheur	Hopital Universitaire pour enfants de Zurich (Suisse)	Rapporteur
Mme Vanessa RIBES	Directrice de recherche	INSERM Paris	Rapporteuse
M. Jean-Yves BLAY	Professeur des universités - praticien hospitalier	Lyon 1 Université	Examineur
Mme Marion LE GRAND	INSERM Marseille	Invitée	
M. Rémi MOUNIER	CNRS Lyon	Invité	

**Mots-clés :** Rhabdomyosarcome, Hétérogénéité, Organoïde

## Résumé :

Les Rhabdomyosarcomes (RMS), sarcomes des tissus mous les plus fréquents chez l'enfant, sont caractérisés par des taux de récurrence élevés. En effet, si les chimiothérapies conventionnelles, telle que la vincristine, constituent le traitement standard des RMS, leur inefficacité à éliminer complètement les cellules tumorales reste un défi majeur. Cette réalité souligne l'urgence de développer des thérapies plus efficaces pour améliorer la prise en charge des jeunes patients. Il apparaît alors comme crucial de comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires responsables de la résistance aux traitements, pour développer de nouvelles stratégies thérapeutiques plus ciblées et moins toxiques, afin d'augmenter les chances de guérison tout en réduisant les séquelles à long terme. A l'aide de nos modèles organoïdes innovants qui préservent l'hétérogénéité intratumorale retrouvée chez les patients, et via des analyses transcriptomiques à l'échelle de la cellule unique (scRNAseq), nous avons identifié une sous-population préexistante de cellules dites "chimio-persistantes" dans les RMS à fusion négative (FNRMS). Ces cellules présentent des caractéristiques de progéniteurs musculaires et mésenchymateux au phénotype dormant/quiescent. Pour étudier le rôle de ces cellules dans la résistance aux traitements, nous avons ensuite

développé des organoïdes génétiquement modifiés permettant leur suivi dynamique via l'expression d'un reporter fluorescent, p27-mVenus. Ainsi nous avons pu montrer que les cellules "chimio-persistantes", sont capables de rentrer rapidement en prolifération, de survivre à la vincristine à travers leur état de quiescence/dormance, et de contribuer à la repopulation tumorale après l'arrêt du traitement grâce à leur plasticité. De plus, ces cellules sont capables d'accumuler plus de fer dans les lysosomes, leur conférant une dépendance accrue au métabolisme du fer et ainsi une vulnérabilité thérapeutique. En effet, la combinaison de la vincristine avec un inducteur de la ferroptose permet à la fois d'éliminer les cellules prolifératives et dormantes/quiescentes, et par conséquent empêche l'enrichissement en cellules "chimio-persistantes". L'ensemble de ces travaux constitue donc une preuve de concept selon laquelle cibler spécifiquement les états cellulaires représente une stratégie efficace pour bloquer la résistance induite par les cellules chimio-résistantes dans les FNRMS et ainsi prévenir les récives.

### **Summary:**

Rhabdomyosarcoma (RMS), the most frequent pediatric soft-tissue sarcoma, presents significant therapeutic challenges due to high recurrence rates. While conventional chemotherapies are central to treatment, they often fail to completely eliminate the tumor, with chemo-persistent cells remaining poorly understood. Thus, there is an urgent need to develop more effective therapies to improve the management of young patients. To do so, a better understanding of the molecular and cellular mechanisms underlying treatment resistance is therefore crucial for the development of more targeted and less toxic therapeutic strategies. Using patient-derived fusion-negative rhabdomyosarcoma (FNRMS) organoid models combined with single-cell transcriptomic analyses (scRNA-seq), we identified a pre-existing subpopulation of chemo-persistent cells that display features of dormant/quiescent muscle and mesenchymal progenitors. To further investigate these chemo-persistent cells, we developed genetically modified fluorescent FNRMS organoids to track their dynamics during treatment using p27-mVenus reporter. This approach revealed that chemo-persistent cells can rapidly re-enter proliferation, survive vincristine treatment through stress-induced plasticity and quiescence, and fuel tumor repopulation upon drug withdrawal. Moreover, these cells exhibit increased lysosomal iron accumulation, conferring a heightened dependency on iron metabolism and thereby representing a potential therapeutic vulnerability. Indeed, combining vincristine with a ferroptosis inducer eliminates both proliferative and dormant/quiescent cells while preventing the enrichment of chemo-persistent cells. Taken together, these data serve as a proof of concept that targeting distinct cellular states in FNRMS is an effective strategy to overcome chemo-resistance driven by chemo-persistent cells, and prevent disease recurrence.