

Rapport 14^{ième} ICW – Saint Malo Mai 2023

Le « Calreticulin workshop », lancé en 1994 par Marek Michalak à Banff (Alberta, Canada), a d'abord été organisé comme une réunion scientifique informelle à laquelle ont participé des chercheurs travaillant sur diverses questions biologiques liées aux fonctions associées au chaperon de type lectine résidant dans le réticulum endoplasmique (RE) et appliquées à un large éventail de systèmes et de modèles biologiques. Au fil du temps, cet atelier a élargi ses domaines d'intérêt pour couvrir toutes les fonctions associées au RE. Il est devenu une conférence internationale qui s'est tenue au Canada, au Chili, au Danemark, en Italie, en Suisse, au Royaume-Uni, aux États-Unis, en Grèce et, cette année, en France pour la première fois. Cette conférence est organisée tous les deux ans (à l'exception de la période de la pandémie mondiale). Elle réunit généralement entre 50 et 100 participants comprenant des chercheurs en début de carrière ainsi que des leaders scientifiques internationaux, favorisant ainsi les discussions et les échanges. L'International Calreticulin Workshop (ICW) est devenu au fil des années un rendez-vous incontournable pour les communautés travaillant sur la calréticuline et le RE dans leur ensemble. La 14^{ième} édition de l'ICW s'est déroulée du 9 au 12 mai à St-Malo, en Bretagne, en France. Elle s'est distinguée par la qualité et la diversité des présentations scientifiques ainsi que par l'atmosphère bienveillante qui a caractérisé les discussions. La 15^{ième} édition de l'ICW se tiendra en 2025 à Bruxelles, en Belgique.



Figure 1 – Photo des participants de la 14^{ième} édition de l'ICW, prise dans la Rotonde du Palais du Grand Large à Saint Malo, avec un arrière plan magnifique.

Cette 14^{ième} édition a rassemblé des chercheurs de 12 pays différents, principalement d'Amérique du Nord et du Sud, du Moyen-Orient et d'Europe. Ils ont présenté leurs dernières découvertes et ont engagé à des discussions approfondies avec leurs collègues. Les présentations ont abordé un large éventail de sujets liés au RE, notamment les mécanismes moléculaires de l'autophagie sécrétoire, le rôle des protéines du Gradient antérieur, les caractéristiques structurales de la calréticuline et ses implications fonctionnelles dans l'immunité et les maladies, l'impact du stress du RE et de la réponse aux protéines non pliées (UPR) dans le cancer et les maladies neurodégénératives, ainsi que les nouveaux mécanismes régulant les fonctions de la voie sécrétoire précoce. L'ICW a accordé une

attention particulière à la relation entre la biologie du RE et diverses maladies, notamment différents types de cancers (tels que le cancer du sang, du cerveau, du sein, colorectal et du poumon), des maladies dégénératives (comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose en plaques, la sclérose latérale amyotrophique, et le syndrome de Wolfram), ainsi que la maladie de Covid-19).

La Session II, intitulée « Calréticuline - Session SFC » a été sponsorisée par **la Société Française du Cancer**. Cette session s'est concentrée sur les aspects structurels et fonctionnels des mutations de la calréticuline (CALR) dans les néoplasmes myéloprolifératifs (NMP). Le **Pr Stefan Constantinescu** et **M. Nicolas Papadopoulos**, doctorant (Institut Ludwig de recherche sur le cancer et Université de Louvain, Belgique) ont discuté des propriétés d'une classe de mutations de la CALR, en mettant en avant l'exemple prévalent de la délétion de 52 paires de bases (CALR del52) présentes chez les patients NMP négatifs pour la mutation JAK2 V617F et les mutations MPL/TpoR. Par une analyse par spectrométrie de masse avec échange hydrogène-deutérium (HDx-MS), il a été démontré que la CALR del52 présentait une modification globale de sa conformation, ce qui augmente son accessibilité en tant que chaperon. De manière remarquable, les changements dans le domaine C-terminal de la CALR induits par la mutation del52 ont conduit à une altération de la structure du domaine N-terminal. Cette modification est importante car elle expose le domaine de liaison des N-glycanes, renforçant ainsi la capacité de la CALR del52 à se lier aux N-glycanes immatures, et augmentant sa capacité de liaison au domaine luminal/extracellulaire du récepteur de la thrombopoïétine (Tpo-R). La spécificité de cette liaison au domaine extracellulaire du TpoR est due aux interactions entre les séquences répétitives chargées positivement présentes dans la nouvelle queue du mutant CALR et plusieurs régions chargées négativement du domaine D1 du Tpo-R. Cette interaction du mutant CALR avec le Tpo-R active le récepteur, agissant ainsi comme une cytokine pour favoriser la prolifération anormale des cellules hématopoïétiques. Ces résultats mettent en évidence le rôle mécanique de la CALR del52 dans la promotion de la prolifération aberrante des cellules hématopoïétiques par le biais de son interaction avec le Tpo-R. Le **Dr Malini Raghavan** (Université du Michigan, MI, États-Unis) a ensuite décrit le rôle des mutations de CALR dans la transformation cellulaire et l'immunité. CALR joue un rôle clé dans l'assemblage et le repliement du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I). Les mutations de CALR observées dans les NMP altèrent l'expression du CMH I à la surface des cellules, empêchant l'activation d'une réponse immunitaire adéquate et favorisant la prolifération des néoplasmes. Dans ce contexte, il a été observé que la dégradation accrue des mutants de CALR entraînait une réduction de la prolifération cellulaire dans certains sous-types de NMP. De manière remarquable, l'induction de l'autophagie a augmenté la dégradation des mutants de CALR, entraînant une diminution de la prolifération des cellules cancéreuses chez les patients atteints de MPN CD34 positifs. Le mutant CALR del52 est particulièrement dégradé par la voie lysosomale. Le **Dr Raghavan** a également abordé l'inhibition de la dégradation associée au RE, qui s'est avérée efficace pour prévenir la prolifération des cellules MPN induite par le mutant CALR. Ensuite, le **Dr Ann Mullaly** (Université de Harvard, Boston, États-Unis) a poursuivi l'étude de la mutation CALR en examinant la mutation CALR del52 et le régulateur épigénétique ASXL1. Bien que la mutation CALR del52 soit fréquente chez les patients atteints de NMP, les mutations ASXL1 survenant dans la myélofibrose réduisent la survie des patients porteurs de la mutation CALR del52. Ceci a été confirmé par l'utilisation de souris CALR del52/ASXL1mut

qui présentent un phénotype MPN plus sévère et un profil mégacaryocytaire aberrant par rapport aux MPN CALR del52 seules. Au niveau moléculaire, la mutation d'ASXL1 a entraîné un gain de fonction du complexe de déubiquitination ASXL1-BAP1 et une augmentation de la phosphorylation de l'histone H3 Ser10, qui est un marqueur de la prolifération cellulaire. Les deux présentations suivantes ont porté sur le rôle de la calréticuline dans l'immunité. La phagocytose par les macrophages nécessite l'émission de signaux par les cellules apoptotiques ou cancéreuses pour initier l'élimination programmée des cellules. On a longtemps pensé que CALR était un signal pro-phagocytaire exprimé à la surface des cellules cancéreuses. **Allison Banuelos** (Stanford University, CA USA) a décrit la sécrétion de la CALR par les macrophages qui se lie aux asialoglycanes présents sur les cellules cibles, fournissant ainsi le signal "*mangez-moi*" pour la phagocytose. En étudiant la sécrétion aberrante de la CALR contenant un motif de rétention KDEL dans le RE, elle a démontré que l'activation des TLR jouait un rôle dans la translocation et la sécrétion ultérieure de la CALR. **Allison Zhang** (Stanford University, CA USA) a poursuivi la discussion en précisant que la sécrétion de CALR par les macrophages était associée à l'activité phagocytaire, et que les deux étaient plus élevées dans les macrophages de type M1 par rapport aux macrophages de type M2. La dernière présentation de la session a abordé la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), qui entraîne une vision centrale floue. Au cours des dernières années, la prévalence de la DMLA a augmenté et le traitement standard actuel, qui consiste en l'injection intravitréenne de VEGF, est invasif et peut entraîner des effets secondaires.

Le **Dr Rimantas Slibinskas** (Université de Vilnius, Vilnius, Lituanie) a présenté les applications topiques de CALR en tant que stratégie thérapeutique potentielle contre la DMLA en utilisant des modèles de néovascularisation choroïdienne induite par laser. Cette stratégie repose sur les propriétés anti-angiogéniques de la vasostatine (correspondant aux 180 acides aminés N-terminaux de CALR). Les souris développant des néovaisseaux choroïdiens (NVC) ont été traitées soit par injection intraoculaire, soit par application topique de vasostatine, en utilisant des gouttes oculaires. L'angiographie *in vivo* a montré que les deux méthodes d'application inhibaient efficacement l'angiogenèse et ralentissaient la progression de la maladie, bien que l'application topique ait montré un délai dans la résolution des lésions vasculaires. Fait remarquable, les applications topiques de CALR à des doses plus faibles étaient plus efficaces que les doses plus élevées, suggérant une réponse dépendante de la dose et la possibilité d'effets indésirables à des concentrations élevées. De plus, l'analyse physico-chimique de la solution des gouttes de CALR a révélé une grande stabilité à température ambiante et inférieure (tandis qu'une instabilité a été observée à 37°C), ce qui pourrait être intéressant du point de vue de la logistique pharmaceutique. Malgré ces résultats, le mécanisme d'action précis du traitement n'est toujours pas encore clairement établi.

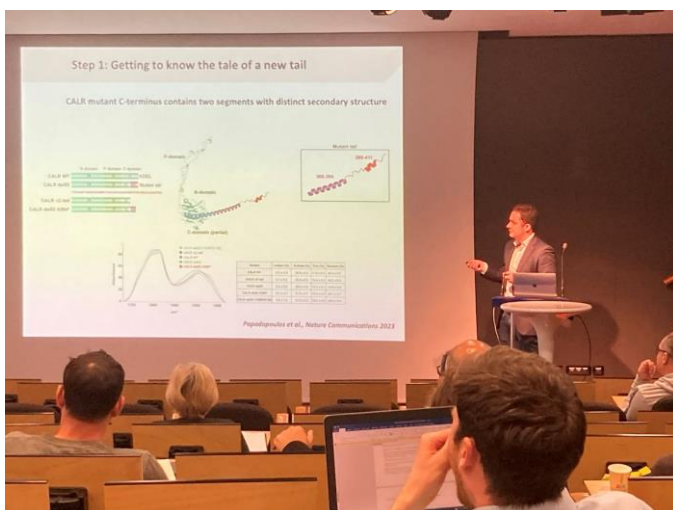
Autres photos du congrès



Dr Frédéric Delom (SFC) remettant le prix poster SFC au Dr Diana Pelizzari-Raymundo (Inserm Rennes)



Dr Frédéric Delom présentant la SFC lors de la session II



M. Nicolas Papadopoulos présentant ses résultats sur la Calreticuline dans les MPN



Programme

May 9th, 2023	May 10th, 2023	May 11th, 2023	May 12th, 2023
<p>We thank our sponsors</p>	<p>9:00 - Session #1 AGR/PDIs Delphine Fessart AGR2: A Key Player in Cellular Plasticity Aeid Igbaria Arvin Pierre</p> <p>Coffee break Roman Hrstka Identification of AGR2 binding partners by protein-protein interaction screen Olivier Pluquet Andrea Martisova</p>	<p>9:00 - Session #3 Cancer –ARC Session Caroline Demangel Targeting the Sec61 translocon in cancer therapy Frank Kruyt Jody Groenendyk</p> <p>Coffee break Jean-Ehrland Ricci Metabolic control of UPR and anti-tumor immunity Diana Pelizzari-Raymundo Dong Liang</p>	<p>9:00 - Session #5 ER functions –SBCF Session Laurence Abrami SARS-CoV-2 shifts transcription of host gene to increase Spike acylation and boost infectivity Michelle Baez Ilaria Pontisso</p> <p>Coffee break Alison Forrester Moving out of the Endoplasmic Reticulum (ER): Governance of protein trafficking by ER Exit Sites, and a novel mechanism for its modulation Céline Philippe Andrew Bazley</p>
	<p>12 :00 - LUNCH Poster session</p>	<p>12 :00 - LUNCH Poster session</p>	
<p>14:30 - Meeting registration</p> <p>16:45- Welcome word 17 :00 - Keynote Lecture Thierry Galli Molecular mechanism and function of secretory autophagy</p> <p>18:15 - Cocktail</p>	<p>14:00 - Session #2 Calreticulin –SFC Session Stefan Constantinescu Structural and functional aspects of oncogenicity by calreticulin mutants in blood cancers Malini Raghavan Calreticulin Mutations in Cell Transformation & Immunity Ann Mullally Allison Zhang</p> <p>Coffee break Rimantas Slibinskas Topical application of calreticulin decreases vascular leakage in the mouse laser-induced choroidal neovascularization model Allisson Banuelos</p>	<p>14:30 - Session #4 Degenerative diseases Benjamin Delprat Wolfram syndrome, a prototypic MAMopathy: from physiopathology to therapy Myriam Pujol</p> <p>Coffee break Claudio Hetz Critical role of protein disulfide isomerases in nervous system proteostasis Guy Brown</p>	