

---

in agreement between



UNIVERSITÀ  
DI TORINO



Université de Lille

Faculté de Sciences et Technologies  
École Doctorale Biologie Santé  
*Cell Physiology Lab INSERM U1003*  
Rue Paul Langevin, SN3  
59655 Villeneuve d'Ascq, France

Università degli Studi di Torino

Department of Life Sciences and Systems Biology  
PhD School in Life and Health Sciences  
*Cellular and Molecular Angiogenesis Lab*  
Via Accademia Albertina 13  
10123 Torino, Italy

## International co-tutorship Ph.D. defence

«Complex Systems for Life Sciences» - XXXIV cycle

«Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie»

# TRP CHANNELS FUNCTIONAL ROLE IN PROSTATE CANCER ANGIOGENESIS AND INVASION

**Chinigò Giorgia**

September 9<sup>th</sup>, 2022

at 1 pm

Department of Life Sciences and Systems Biology  
University of Turin  
Via Accademia Albertina 13 - room 2

Zoom link to the session : <https://univ-lille-fr.zoom.us/j/98368226893?pwd=c01BSnpGVGtWand6ZHI3ckRVNGxFQT09>

Meeting ID: 983 6822 6893

Passcode: 856956

---

# Abstract

Prostate cancer (PCa) is the second most lethal tumor among men and its mortality is mainly due to metastasis. Thus, it is critical to understand the mechanisms by which tumors grow and how metastases can diffuse throughout the body. Cell migration of both epithelial and endothelial cells (EC) is required for cancer cell invasion of neighboring tissues as well as for the formation of tumor vasculature. Several Transient Receptor Potential (TRP) channels are deregulated in cancer cells and have been suggested as valuable markers in predicting cancer progression as well as potential targets for pharmaceutical therapy. In the present Ph.D. thesis, I established the role of TRP channels regulating  $Ca^{2+}$  signature in PCa cells and vasculature focusing, in particular, on the channels that affect migration, a common key step in tumor vascularization and invasion.

The role of TRP channels in prostatic angiogenesis was studied in prostate tumor-derived EC (PTEC): we fully profiled the expression of all TRPs in normal ECs and TECs derived from PCa, breast, and renal tumors. We identified three 'prostate-associated' genes whose expression appears selectively upregulated in PTECs: TRPV2, TRPC3, and TRPA1. Among them, TRPA1 seems to play a critical role in regulating PCa angiogenesis, promoting PTEC migration, vascular network formation, and angiogenic sprouting both *in vitro* and *in vivo*. As regards, instead, epithelial PCa cells' motility, emerging evidence indicates that TRPM8 may exert a protective role in metastatic PCa by impairing the motility of these cancer cells. Investigating the molecular mechanism underlying this biological effect, we found that, as previously described for ECs, TRPM8 inhibits PCa cell migration and adhesion independently from its channel function by intracellularly trapping the small GTPase Rap1A in its inactive form and thus avoiding its translocation and activation on the plasma membrane. Moreover, we identified and validated the residues involved in the interaction between TRPM8 and Rap1A: residues E207 and Y240 in the sequence of TRPM8 and Y32 in that of Rap1A. Our data shed new light on the roles played by TRPA1 and TRPM8 in prostate cancer angiogenesis and invasion by affecting cell migration of endothelial and epithelial cells, respectively.

In the fight against metastasis, the development of efficient nanodelivery systems can be as crucial as the identification of new molecular targets in cancer therapy to fill the gap between "drug discovery" and "drug delivery" which is one of the most challenges in clinical perspectives. In this context, a second part of this Ph.D. project focused on the study of lipid nanoparticles as suitable drug delivery systems. In particular, the use of solid lipid nanoparticles (SLN) and quatsomes (QS) for the incorporation of polymethine dyes (PMD) suitable for both diagnostic and therapeutic purposes was investigated. We demonstrated that lipid nanocarriers not only increase the solubility of PMD in physiological conditions but even enhance their

spectroscopic performances, making PMD-loaded nanocarriers potential and appealing candidates for *in vivo* imaging and/or PDT applications.

Overall, the present Ph.D. thesis deepens our knowledge of the role of TRP channels in PCa progression, providing new insight into their possible use as new therapeutic targets in PCa treatment and, at the same time, proposes new therapeutic tools to improve drug delivery in cancer therapy.

# Resumé

Le cancer de la prostate (CaP) est la deuxième cause de mortalité par cancer chez l'homme et sa létalité est principalement due aux métastases. Il est donc essentiel de comprendre les mécanismes par lesquels les tumeurs se développent et comment les métastases peuvent se diffuser dans le corps. L'agressivité des tumeurs prostatiques est étroitement liée à la migration des cellules épithéliales et endothéliales (EC) provoquant l'invasion des tissus voisins ainsi que la vascularisation tumorale. Plusieurs canaux de la famille TRP (Transient Receptor Potential) sont dérégulés dans les cellules cancéreuses et ont été suggérés comme marqueurs pronostiques et diagnostiques ainsi que comme des cibles potentielles pour la thérapie du cancer. Dans cette thèse doctorale, j'ai établi le rôle de certains canaux TRP régulant la signature calcique des cellules endothéliales et cancéreuses de la prostate, en se concentrant en particulier sur les canaux qui affectent la migration, une étape clé commune dans la vascularisation et l'invasion tumorales.

Le rôle des canaux TRP dans l'angiogenèse prostatique a été étudié dans les EC dérivées de tumeurs de la prostate (PTEC): nous avons établi le profil complet d'expression de tous les TRP dans les EC normales et les TEC dérivées des tumeurs prostatiques, mammaires et rénales. Nous avons identifié trois gènes « associés à la prostate » dont l'expression est corrélée positivement dans les PTEC : TRPV2, TRPC3 et TRPA1. Parmi eux, TRPA1 joue un rôle essentiel dans la régulation de l'angiogenèse du CaP, favorisant la migration des PTEC, la formation du réseau vasculaire et l'angiogenèse par bourgeonnement *in vitro* et *in vivo*.

En ce qui concerne la motilité des cellules cancéreuses d'origine épithéliale, je me suis concentrée sur TRPM8, canal pour lequel un rôle protecteur dans le CaP métastatique a été proposé via l'altération de la motilité cellulaire. Nous avons tout d'abord validé le rôle anti-métastatique de TRPM8 *in vivo*, montrant que la surexpression et l'activation de TRPM8 réduisent significativement la croissance tumorale et la dissémination des métastases dans un modèle murin de xélogreffe orthotopique de la prostate. De plus, en étudiant le mécanisme moléculaire sous-jacent à la fonction inhibitrice de TRPM8 sur la migration des cellules du CaP, nous avons constaté que, comme décrit précédemment pour les EC, TRPM8 inhibe la migration et l'adhésion des cellules du CaP indépendamment de sa fonction canalaire en piégeant au niveau intracellulaire la petite GTPase Rap1A sous sa forme inactive et en évitant ainsi sa translocation et activation sur la membrane plasmique. De plus, nous avons identifié et validé les résidus impliqués dans l'interaction entre TRPM8 et Rap1A : résidus E207 et Y240 dans la séquence de TRPM8 et Y32 dans celle de Rap1A. Nos données révèlent donc le mécanisme moléculaire de TRPA1 et TRPM8 expliquant leur rôle dans l'angiogenèse et l'invasion du CaP en affectant la migration des cellules endothéliales et épithéliales, respectivement.

Dans la lutte contre les métastases, le développement de systèmes de nano-administration efficaces est aussi crucial que l'identification de nouvelles cibles moléculaires afin de combler le fossé clinique entre la

«découverte de cibles pharmaceutiques » et la « livraison de médicaments ». Dans ce contexte, une deuxième partie de ce projet de doctorat était axé sur l'étude des nanoparticules lipidiques en tant que systèmes d'administration de médicaments appropriés. En particulier, l'utilisation de nanoparticules lipidiques solides (SLN) et de quatsomes (QS) pour l'incorporation de colorants polyméthine (PMD) adaptés à des fins diagnostiques et thérapeutiques a été étudiée. Nous avons démontré que les nanoparticules lipidiques non seulement augmentent la solubilité de la PMD dans des conditions physiologiques, mais améliorent même leurs performances spectroscopiques, faisant des nanoparticules chargés de PMD des candidats potentiels et attrayants pour l'imagerie *in vivo* et/ou les applications PDT.

Dans l'ensemble, cette thèse de doctorat approfondit nos connaissances sur le rôle des canaux TRP dans la progression de la CaP, fournissant de nouvelles cibles potentielles dans la thérapeutique contre le CaP et, en même temps, propose de nouveaux outils thérapeutiques pour améliorer l'administration de médicaments dans le traitement du cancer.