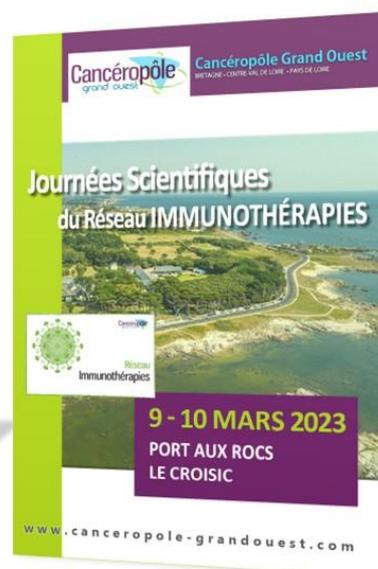


Retour sur les journées scientifiques du réseau Immunothérapies

9 - 10 Mars 2023

Port aux Rocs, Le Croisic



Après plusieurs années d'absence, **ces journées scientifiques ont été l'occasion pour les équipes du réseau Immunothérapies de se retrouver, d'en accueillir de nouvelles** et ont montré, au travers d'une participation record de **50 personnes**, l'intérêt des équipes pour ce type de rencontre.

La journée a débuté par la présentation des projets stratégiques du Cancéropôle Grand Ouest et du réseau Immunothérapies dans le cadre de la nouvelle labellisation des Cancéropôles pour 2023-2027. Les cahiers des charges des appels à projets lancés en 2023 par le CGO ont été rappelés afin de permettre et de faire mûrir la réflexion sur d'éventuels projets collaboratifs qui pourraient être déposés.



Les présentations scientifiques ont débuté par une conférence introductive de **Cédric Ménard**, *Equipe PLATON, Inserm U1242 OSS "Oncogenesis Stress Signaling", & Centre de Ressources Biologiques, CHU, Rennes*, sur l'« Empreinte tissulaire des propriétés immunomodulatrices des **cellules stromales mésenchymateuses** ». L'équipe a pu ainsi montrer que les cellules stromales mésenchymateuses, CSM, produites à partir de tissu adipeux possèdent une meilleure capacité intrinsèque à inhiber l'activation des lymphocytes T, principalement grâce à l'enzyme indoléamine-2,3 dioxygénase. Ces résultats permettent de revisiter certains paramètres liés à la production de CSM en thérapie cellulaire mais aussi leurs propriétés dans divers contextes physiopathologiques, y compris les cancers. *Pour plus d'information.*

Le programme était ensuite découpé en trois sessions, « Thérapies », « Immunopathologie » et « Cellules myéloïdes » avec au total **15 communications orales dont 80 % par de jeunes chercheur(se)s**.

La session « **Thérapies** » a permis d'aborder divers thématiques. **Gwenann Cadiou**, *Equipe 3 "Anti-tumour immunosurveillance and immunotherapy"*, *INCIT, UMR 1302, Nantes* a montré que « **l'édition génomique de PD-1 ou TIGIT dans des lymphocytes T** spécifiques de mélanome améliore leurs fonctions antitumorales, mais impacte le cycle cellulaire ». *Pour plus d'information*. **Audrey Mérienne**, appartenant à la même équipe, s'intéresse à la « Recherche de **lymphocytes T CD8 spécifiques de néoépitopes** générés dans un contexte TAP1 déficient dans les **cancers colorectaux** ». *Pour plus d'information*. **Clément Rivière**, *Equipe « BioMédicaments Anti-Parasitaires (BioMAP) », UMR Université-INRAE ISP 1282, Tours*, développe une nouvelle thérapie antitumorale basée sur un organisme unicellulaire, « **Neospora caninum armée avec un anticorps thérapeutique** comme stratégie innovante contre le cancer ». *Pour plus d'information*. **Amélie Guiho**, *Equipe 3 "Anti-tumour immunosurveillance and immunotherapy"*, *Immunology and New Concepts in ImmunoTherapy, INCIT, UMR 1302, Nantes* a abordé le « Développement d'une stratégie de **vaccination par de longs peptides synthétiques artificiels** dans le mélanome. ». *Pour plus d'information*. Ensuite **Charlotte Jacquet**, *Equipe 2, « Oncologie Nucléaire », CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Nantes*, a présenté la « **Radiobiologie des particules alpha** : développement d'un modèle *in vitro* de radiothérapie interne vectorisée anti-tumorale ». *Pour plus d'information*. Cette session s'est terminée par la présentation d'**Audrey Grain**, *Equipe 12, MITIC, « Manipulation of Lymphocytes for Immunotherapy », CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Nantes* sur « **Deux stratégies de ciblage d'une rechute CD19 positive de LAL-B** survenant après thérapie CAR-T anti-CD19 ». *Pour plus d'information*.

La session « **Immunopathologie** » a débuté par intervention de **Soizic Garaud**, *LBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, Brest*, sur « Quelle est la physiopathologie des effets indésirables induits par les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire chez les patients atteints de cancer ? ». *Pour plus d'information*. **Sylvie Hermouet**, *Equipe 1 « Modulation des Réponses Immunes et Inflammatoires », INSERM UMR 1302, INCIT, Nantes*, s'intéresse à l'« **Impact des traitements des hépatites virales** dans le myélome multiple et les autres gammopathies monoclonales liées aux virus de l'hépatite B ou C ». *Pour plus d'information*. **Emmanuelle Godefroy**, de la même équipe, a présenté « Les **cellules T régulatrices DP8α** réactives au microbiote intestinal humain et exprimant CD73 font défaut chez les patients atteints de GvHD aiguë et préviennent le développement de la maladie dans un modèle préclinique de souris humanisées ». *Pour plus d'information*. **Mathilde Deiber**, *Equipe 3 "Anti-tumour immunosurveillance and immunotherapy"*, *INCIT, UMR 1302, Nantes*, étudie l'« Implication d'un composant de l'inflammasome des cellules tumorales, NLRC5, dans la modulation de la **réponse immunitaire T dans le cancer colorectal** chez l'Homme ». *Pour plus d'information*. **Javier Saenz**, *Equipe 2 « Recherche clinique et translationnelle dans les maladies de la peau prolifératives et inflammatoires », INCIT, UMR 1302, Nantes* s'intéresse au « Degré de **photo-exposition cutanée du mélanome primitif**, comme facteur prédictif de survie sans récurrence chez les patients traités par anti-PD-1. » *Pour plus d'information*. Enfin, **Nicolas Boisgerault**, *Equipe 1, ITMI, "Immunomodulation of the Tumor Microenvironment and Immunotherapy of Thoracic Cancers", CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Nantes*, étudie l'"**Immunogénicité des vésicules extracellulaires produites lors d'infections par des virus oncologiques**". *Pour plus d'information*.

La session « **Cellules myéloïdes** » a permis d'aborder trois sujets, **Pascale Jeannin**, *Equipe 4 "Innate Immunity and Cancer", CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Angers* a présenté les travaux de Najia Jeroundi (qui a dû annuler sa participation) sur « Le **glycogène**, un substrat unique pour la

fonction des **macrophages** ». *Pour plus d'information* ; ainsi que les travaux de Léa Paolini avec **Maxime Le Corre** concernant « **L'acide lactique** est un facteur local modulant le phénotype et le métabolisme des **macrophages** associés aux tumeurs humaines ». *Pour plus d'information*. **Mathieu Rouel**, *Equipe 1 « Phagocytes mononucléés, Immunopathologie, Immunovirologie », CR2TI, UMR 1064, Nantes*, a décrit l'« Identification de populations myéloïdes glycolytiques tumorales par analyse de données publiques de **scRNA-Seq** issues de tumeurs pulmonaires ». *Pour plus d'information*.

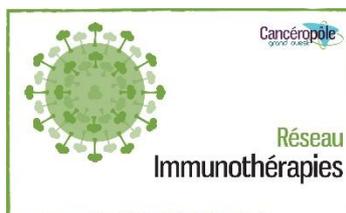
Une session était dédiée à des présentations flash de 4 minutes présentant les thématiques et savoir-faire des équipes du réseau Immunothérapies, afin d'initier des échanges et potentielles collaborations.

Les journées se sont achevées sur une discussion riche en propositions en vue de construire de nouveaux projets collaboratifs.

Ces journées ont été appréciées puisque **83 % des répondants au questionnaire de satisfaction se disent très satisfaits de leur participation aux journées** et 17% satisfaits. (Le taux de réponse du questionnaire est de 86 %).



Pour retrouver plus d'information sur le réseau Immunothérapies, [cliquez ici](#).



« Empreinte tissulaire des propriétés immunomodulatrices des cellules stromales mésenchymateuses »

Cédric Ménard, Equipe PLATON, Inserm U1242 OSS "Oncogenesis Stress Signaling", & Centre de Ressources Biologiques, CHU, Rennes

Les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) de l'adulte représentent une alternative thérapeutique prometteuse en médecine régénérative et pour le traitement de maladies à forte composante inflammatoire grâce à leur soutien trophique et leurs propriétés immunosuppressives. Plusieurs procédés de production de grade clinique ont été développés de par le monde mais aucun d'eux n'a démontré sa supériorité en ce qui concerne l'efficacité clinique et aucun biomarqueur n'est validé dans quelque indication que ce soit. De plus, les mécanismes d'action supportant leur potentiel immunomodulateur *in vitro* sont multiples, et parmi eux ceux qui conditionnent l'efficacité des CSM *in vivo* sont inconnus. C'est maintenant un véritable challenge que de les mettre en évidence compte tenu du nombre d'études publiées, de leur faible comparabilité et même de leurs résultats parfois contradictoires. Nous avons mis en place des tests quantitatifs standardisés pour qualifier les CSM à usage clinique et réduire au minimum la variabilité expérimentale. Nous avons pu ainsi montrer que les CSM produites à partir de tissu adipeux possèdent une meilleure capacité intrinsèque à inhiber l'activation des lymphocytes T, principalement grâce à l'enzyme indoléamine-2,3 dioxygénase. Ces résultats permettent de revisiter certains paramètres liés à la production de CSM de thérapie cellulaire mais aussi les propriétés de leurs parentes natives dans divers contextes physiopathologiques, y compris les cancers.



« L'édition génomique de PD-1 ou TIGIT dans des lymphocytes T spécifiques de mélanome améliore leurs fonctions antitumorales, mais a un impact différent sur le cycle cellulaire »

Gwenann Cadiou, Equipe 3 "Anti-tumeur immunosurveillance and immunotherapy", Immunology and New Concepts in ImmunoTherapy, INCIT, UMR 1302, Nantes.

Notre projet s'inscrit dans le développement de thérapies cellulaires innovantes, basées sur l'injection de cellules T spécifiques de la tumeur avec des fonctions optimisées par édition génomique des immune checkpoints. Notre équipe a précédemment montré que les cellules T PD-1^{KO} spécifiques de mélanome présentaient des fonctions antitumorales améliorées mais des capacités prolifératives réduites. Notre projet vise à déterminer les conséquences fonctionnelles de l'inactivation génomique d'un autre IC, TIGIT, dont la voie d'inhibition agit en synergie avec celle de PD-1. Nos résultats ont confirmé que les cellules T PD-1^{KO} spécifiques du mélanome présentaient une dérégulation du cycle cellulaire alors que les cellules TIGIT^{KO} ont des capacités prolifératives préservées. De plus, les cellules TIGIT^{KO} expriment des niveaux plus faibles de PD-1, ce qui leur donnerait un avantage supplémentaire dans le microenvironnement tumoral. Par ailleurs, nous avons démontré *in vitro* l'activité antitumorale supérieure des cellules TIGIT^{KO}, par rapport à leur homologue WT. Enfin, nous avons mis en place un modèle préclinique avec des souris immunodéficientes greffées avec des tumeurs de mélanome humain PD-L1⁺/CD155⁺. Dans ce modèle, le transfert adoptif de cellules TIGIT^{KO} a diminué de manière significative la croissance tumorale par rapport aux cellules T WT.

Ces résultats soulignent la nécessité de documenter soigneusement les conséquences de l'édition d'immune checkpoints, non seulement sur les propriétés antitumorales mais aussi sur les propriétés essentielles des cellules T telles que la prolifération. À cet égard, l'édition de TIGIT semble répondre à toutes les exigences d'une application thérapeutique innovante, en améliorant la réactivité des cellules T antitumorales tout en préservant les capacités de persistance de ces cellules.



« Recherche de lymphocytes T CD8 spécifiques de néoépitopes générés dans un contexte TAP1 déficient dans les cancers colorectaux »

Audrey Mérienne, *Equipe 3 "Anti-tumour immunosurveillance and immunotherapy", Immunology and New Concepts in ImmunoTherapy, INCIT, UMR 1302, Nantes.*

L'un des mécanismes d'échappement des tumeurs au système immunitaire résulte de défauts des composants de la machinerie de présentation antigénique, tels que **TAP1** (*transporter associated with antigen processing*), affectant la réponse immunitaire T $\alpha\beta$ CD8. Cependant, les défauts d'expression de ce transporteur conduisent également à l'apparition d'un nouveau répertoire d'épitopes T associés à des voies alternatives de présentation antigénique, nommés TEIPPs (*T cell Epitopes associated with Impaired Peptide Processing*). Dans ce projet, nous montrons 1) l'existence de sous-groupes de **cancer colorectal humain** (CCR) en fonction de l'expression *in situ* de TAP1 dans les cellules tumorales et 2) la présence, dans des lignées de TILs (**lymphocytes infiltrant les tumeurs**) établies à partir de CCR, de lymphocytes T CD8 spécifiques de la lignée cancéreuse colique SW480 TAP1 déficiente, l'identification des TEIPPs reconnus étant actuellement en cours.



« Neospora caninum armée avec un anticorps thérapeutique comme stratégie innovante contre le cancer »

Clément Rivière, Equipe « BioMédicaments Anti-Parasitaires (BioMAP) », UMR Université-INRAE ISP 1282, Tours.

Dans la volonté de développer de nouvelles thérapies antitumorales, l'équipe Biomédicaments Antiparasitaires (BioMAP) a récemment mis en place une stratégie innovante fondée sur l'utilisation d'un microorganisme non pathogène pour l'homme, Neospora Caninum comme agent prometteur dans la lutte contre les cancers. Les études menées par l'équipe ont permis de montrer que cet organisme unicellulaire intracellulaire obligatoire est capable d'induire une régression tumorale avec comme mécanismes d'action une lyse directe des cellules tumorales mais aussi l'activation du système immunitaire innée et adaptatif. Fort de ces résultats, l'objectif du projet de recherche est de produire un protozoaire capable d'exprimer et de sécréter des anticorps thérapeutiques afin de renforcer l'action anti-tumorale de ce microorganisme. Par l'intermédiaire de transfection, nous avons d'ores et déjà obtenu deux souches recombinantes capable de produire un anti-VEGF (Bevacizumab) et un anti-PD-L1 (Atezolizumab) sous le format d'un fragment variable à chaîne unique (scFv) ou le format d'un scFv couplé au fragment cristallisable (Fc). Par ces travaux, nous envisageons de développer une véritable plateforme thérapeutique basée sur l'utilisation de Neospora caninum « armé », capable de réintroduire une réponse immunitaire efficace au sein de la tumeur tout en ayant la capacité de sécréter des anticorps thérapeutiques directement dans le microenvironnement tumoral. Cette approche innovante présente la possibilité d'élaborer de nombreuses thérapies et donne ainsi l'opportunité d'améliorer le traitement des cancers, tout particulièrement de mauvais pronostic tels que le glioblastome.



« Développement d'une stratégie de vaccination par de longs peptides synthétiques artificiels dans le mélanome. »

Amélie Guiho, *Equipe 3 "Anti-tumeur immunosurveillance and immunotherapy", Immunology and New Concepts in ImmunoTherapy, INCIT, UMR 1302, Nantes.*

L'immunothérapie représente une avancée significative dans le domaine du traitement des cancers et, avec les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire, les vaccins thérapeutiques constituent l'une des stratégies d'immunothérapie les plus prometteuses. On sait maintenant que l'efficacité des vaccins thérapeutiques contre le cancer repose sur une activation robuste des lymphocytes T, qui est obtenue si les épitopes CD4 et CD8 sont présentés conjointement par la même cellule présentatrice d'antigène. Nous avons développé une nouvelle stratégie de vaccin thérapeutique avec un long peptide synthétique artificiel (aSLP) contenant un épitope CD4 défini lié à un épitope CD8 défini réunis via un linker clivable par les cathepsines. Ce vaccin renforce l'activation des lymphocytes CD8 par présentation croisée, limite la compétition entre les deux épitopes pour l'apprêtement et permet de sélectionner soigneusement les épitopes les plus immunogènes. Des données publiées ont montré que cette construction vaccinale est immunogène, à la fois in vitro et in vivo contre les antigènes de mélanome MELOE-1 et melanA/MART1, ce qui signifie que le clivage intracellulaire permet l'activation des réponses CD4 classiques et CD8 par présentation croisée. Notre objectif est maintenant de valider in vitro et in vivo une deuxième génération de vaccin anticancéreux exploitant des épitopes CD4 dits " universels ", dérivés d'antigènes viraux ou tumoraux qui peuvent être présentés par une grande variété de molécules HLA de classe II.



« Radiobiologie des particules alpha : développement d'un modèle *in vitro* de radiothérapie interne vectorisée anti-tumorale »

Charlotte Jacquet, *Equipe 2, « Oncologie Nucléaire », Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Intégrée Nantes Angers, CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Nantes.*

La radiothérapie interne vectorisée (RIV) vise à détruire les cellules cancéreuses de manière ciblée à l'aide d'un radioélément couplé à un vecteur spécifique des cellules tumorales. L'utilisation d'émetteurs de particules α pour la RIV semble pertinente car ils combinent un fort pouvoir ionisant et une courte distance de pénétration. Les objectifs de cette étude étaient d'étudier les mécanismes liés à la cytotoxicité directe et à la modulation de l'immunogénicité des cellules tumorales irradiées par la radiothérapie interne vectorisée alpha (RIV α). Nous avons donc développé un modèle *in vitro* de RIV α anti-tumorale basé sur l'utilisation d'anti-CD138 radiomarqué avec de l'astate-211 et de 4 lignées cellulaires murines : un myélome multiple (MOPC315.BM), deux adénocarcinomes - mammaire (4T1) et colorectal (MC38) et un mélanome métastatique (B16F10). Pour les 4 lignées cellulaires tumorales, nous avons observé que la RIV α utilisant l'anti-CD138-²¹¹At induisait des cassures double-brin de l'ADN suivies d'un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M. Pour les deux lignées, MOPC315.BM et MC38, nous avons observé une mort apoptotique des cellules tumorales irradiées avec la RIV α anti-CD138-²¹¹At. A l'exception de la lignée MOPC315.BM, nous avons observé la modulation de l'expression de (i) plusieurs chimiokines (CCL2, CCL5, CXCL1, CXCL10) impliquées dans le recrutement et l'activation des cellules immunitaires, (ii) des motifs moléculaires associés aux dommages (Hsp70), et (iii) des protéines membranaires impliquées dans l'adhésion cellulaire et la présentation antigénique (ICAM-1, VCAM 1, CMH-1, PD-L1) après traitement avec la RIV α anti-CD138-²¹¹At. Cette étude confirme les résultats obtenus dans d'autres modèles de RIV α associant une rupture double brin de l'ADN et un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M1. Enfin, dans les lignées cellulaires d'adénocarcinome et de mélanome, nos résultats suggèrent que la RIV α pourrait moduler l'immunogénicité des tumeurs. Ces résultats suggèrent la pertinence de combiner RIV α et immunothérapie comme traitement innovant du cancer.



« Deux stratégies de ciblage d'une rechute CD19 positive de LAL-B survenant après thérapie CAR-T anti-CD19 »
Audrey Grain, Equipe 12, MITIC, « Manipulation of Lymphocytes for Immunotherapy », Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Intégrée Nantes Angers, CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Nantes.

Rationnel : Lors d'une rechute CD19⁺ après traitement par cellules CAR-T anti-CD19, une seconde injection de cellules CAR-T anti-CD19, ou l'utilisation d'anticorps monoclonaux peuvent être discutées. Nous avons analysé le phénotype membranaire et la sensibilité à la lyse d'une rechute de LAL-B CD19⁺ après traitement par des cellules CAR-T anti-CD19. Les options thérapeutiques potentielles sont discutées.

Méthode : Les cellules issues de rechutes successives d'une LAL-B chez un même patient ont été collectées. Une analyse étendue du phénotype membranaire a été réalisée. La sensibilité à la lyse, induite via trois modes de reconnaissance différents (cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), récepteur CAR anti-CD19 et TCR), a été analysée par des tests au ⁵¹Cr et par des tests de cytotoxicité sur 24 heures.

Résultats : L'expression des antigènes préalablement ciblés, diminuait dans les prélèvements issus des rechutes alors que de nouvelles cibles thérapeutiques apparaissaient. Les cellules issues des rechutes demeuraient sensibles à la lyse induite via le CAR anti-CD19, le TCR ou l'ADCC. Cependant la cinétique de la lyse cellulaire observée était différente selon le mode de reconnaissance utilisé. Par ailleurs, nous avons identifié une population monocytaire potentiellement impliquée dans la perte des cellules CAR-T circulantes chez le patient.

Conclusion : Cette rechute CD19⁺ après traitement par cellules CAR-T anti-CD19 conserve sa sensibilité à la lyse induite par des lymphocytes T. Dans le cadre de ces rechutes de haut risque un immunophénotypage étendu pourrait permettre de discuter de nouvelles options thérapeutiques.



« Quelle est la physiopathologie des effets indésirables induits par les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire chez les patients atteints de cancer ? »

Soizic Garaud^{1,2}, Alice Tison^{1,2}, Benjamin Auberger², Patrice Hémon¹, Arnaud Uguen^{1,2}, Divi Cornec^{1,2}, Jacques-Olivier Pers^{1,2}.

¹LBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, Brest, France ;

²CHU de Brest, Brest, France

Les récents succès des inhibiteurs de points de contrôle immunitaires (ICI) ont radicalement changé le paysage thérapeutique en cancérologie. Cependant, les ICI sont souvent responsables d'effets secondaires immuno-médiés (irAE), qui peuvent affecter tous les organes, avec un large éventail de manifestations cliniques, allant de formes légères à mortelles. Bien que plusieurs hypothèses existent quant à la physiopathologie de ces irAEs, les acteurs immunitaires impliqués sont inconnus. L'objectif de ce projet est de caractériser la réponse immunitaire circulante et tissulaire au moment de la toxicité immuno-médiée, afin d'identifier des biomarqueurs prédictifs des irAEs, et améliorer leur prise en charge. Premièrement, une caractérisation des cellules immunitaires du sang sera réalisée avant et pendant le traitement mais aussi à l'apparition des irAE à partir de la bio-collection de l'étude TADIG. Cette étude clinique prospective inclura, pour un suivi de trois ans, 200 patients atteints de cancer traités par ICI seul ou en combinaison en norme de soin au CHU de Brest. Deuxièmement, une analyse tissulaire sera réalisée de façon rétrospective, à partir de biopsies d'organes affectés par des irAEs, en comparant l'infiltrat immunitaire à celui présent sur tissus affectés par une maladie auto-immune classique analogue. Une première analyse a démontré par imagerie de masse la présence de macrophages, de lymphocytes T auxiliaires et cytotoxiques, mais également de lymphocytes B, majoritairement doubles négatifs (IgD⁻CD27⁻) et naïfs (IgD⁺CD27⁻) dans des lichens plans immuno-induits. L'étude des mécanismes immunitaires à l'origine des irAEs, via des approches de pointes telles que l'imagerie de masse, permettra une meilleure compréhension de la physiopathologie des irAE, l'identification de biomarqueurs prédictifs de toxicité, et apportera des pistes pour en améliorer la prise en charge.



Retour vers le
résumé des journées

« Impact des traitements des hépatites virales dans le myélome multiple et les autres gammopathies monoclonales liées aux virus de l'hépatite B ou C »

Sylvie Hermouet, Alba Rodríguez García, Nicolas Mennesson, Gema Hernández, María Luz Morales, Laurent Garderet, Lorine Bouchereau, Sophie Allain-Maillet, Eric Piver, Irene Marban, David Rubio Ruiz, Edith Bigot-Corbel, Joaquin Martínez-López, María Linares.

Equipe 1 « Modulation des Réponses Immunes et Inflammatoires », INSERM UMR 1302, Immunology and New Concepts in ImmunoTherapy, INCIT, Nantes.

Certains myélomes multiples (MM) et gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS) présentent une immunoglobuline monoclonale (Ig mc) spécifique du virus de l'hépatite C (VHC), et sont donc vraisemblablement induits par le VHC. Logiquement, chez ces patients le traitement antiviral entraîne la disparition de la stimulation antigénique et le contrôle des plasmocytes clonaux malins (Front Immunol 2022; 12:797209). Ici, nous avons étudié le rôle du virus de l'hépatite B (VHB) dans la pathogenèse des MGUS et MM chez 45 patients infectés par le VHB et atteints de MGUS ou MM. Nous avons analysé la spécificité de reconnaissance de l'Ig mc et validé l'efficacité du traitement antiviral. Pour 18/45 (40 %) patients infectés par le VHB, la cible de l'Ig mc était soit le VHB (n=11), soit un autre agent infectieux (n=6). Deux patients dont l'Ig mc ciblait le VHB (HBx, HBcAg), indiquant une gammopathie induite par le VHB, ont reçu un traitement antiviral : la gammopathie n'a pas progressé. L'efficacité du traitement antiviral a ensuite été étudiée dans une grande cohorte internationale de patients atteints de MM et infectés par le VHB (n=1367), ayant reçu ou non des traitements anti-VHB, comparée à une cohorte de MM infectés par le VHC (n=1220). Les traitements antiviraux ont significativement amélioré la probabilité de survie des patients dans les 2 cohortes (p=0,016 pour la cohorte VHB+, p=0,005 pour la cohorte VHC+). Au total, certains MGUS et MM peuvent être initiés par le VHB ou le VHC, et notre étude démontre l'importance et l'efficacité du traitement antiviral dans la prise en charge de ces MGUS et MM.



« Les cellules T régulatrices DP8 α réactives au microbiote intestinal humain et exprimant CD73 font défaut chez les patients atteints de GvHD aiguë et préviennent le développement de la maladie dans un modèle préclinique de souris humanisées »

Emmanuelle Godefroy^{1*}, Patrice Chevallier, MD², Fabienne Haspot, PhD^{3*}, Caroline Vignes, PhD^{1*}, Véronique Daguin^{3*}, Sylvia Lambot^{1*}, Thierry Guillaume, MD, PhD^{4*}, Margaux Verdon^{1*}, Pierre Peterlin, MD^{5*}, Alice Garnier, MD^{4*}, Maxence Mougou^{1*}, Amandine Le Bourgeois, MD^{4*}, Maxime Jullien, MD^{4*}, Francine Jotereau, PhD^{1,6*} and Frédéric Altare, PhD^{1*}

¹INCIT - IRS-2, INSERM UMR 1302, Nantes, France ; ²Clinical Hematology, Nantes University Hospital, Nantes, France ; ³CR2TI, INSERM U1064, Nantes, France ; ⁴Clinical Hematology Department, Nantes University Hospital, Nantes, France ; ⁵Clinical Hematology Department, CHU de Nantes, NANTES CEDEX 1, France ; ⁶INCIT - IRS-2, University of Nantes, Nantes, France.

La transplantation de cellules souches allogéniques (allo-HSCT) pour traiter les hémopathies malignes peut entraîner des complications potentiellement mortelles, comme la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD). De plus en plus de données suggèrent que la composition du microbiote intestinal et l'activité des cellules T régulatrices (Tregs) pourraient être impliquées dans la prévention de la GvHD. Nous avons identifié une nouvelle population de Tregs FoxP3-négatifs sécrétant de l'IL-10, nommé DP8 α , qui présente une spécificité TCR pour la bactérie intestinale *Clostridium IV Faecalibacterium prausnitzii*. Des fractions importantes de ces cellules expriment également les ectonucléotidases membranaires CD39 et CD73, qui sont directement impliquées dans leur activité suppressive in vitro. Ces données nous ont incités à émettre l'hypothèse que les Tregs réactifs à *F. prausnitzii*-DP8 α pourraient faire le lien entre la dysbiose du microbiote et l'incidence de la GvHD chez les patients allo-HSCT.

Nous avons quantifié les Tregs circulants de DP8 α et leur expression CD39 et CD73 avant et après l'allo-transplantation. Une déficience frappante des Tregs DP8 α exprimant CD73 a été fortement associée au développement de l'aGvHD ($p < .001$) un mois après la transplantation, par rapport aux patients sans aGvHD ou aux patients avant la transplantation. Il est important de noter que l'expression de CD73 n'était affectée sur aucune autre population de cellules T analysée et ne résultait pas de la corticothérapie. Dans l'ensemble, ces données suggèrent fortement qu'une altération fonctionnelle dépendante de CD73 des Tregs de DP8 α pourrait, au moins en partie, être impliquée dans l'apparition et/ou le développement de la GvHD.

Nous avons ensuite évalué l'efficacité thérapeutique des Tregs CD73+ DP8 α dans un modèle préclinique de xéno-GvHD aiguë induite par l'injection de PBMC humains dans des souris NSG irradiées. Les Tregs CD73+ DP8 α amplifiés in vitro et injectés par voie i.v. ont considérablement protégé les souris contre la xéno-GvHD (Log-rank, $p < .0001$) sans empêcher le développement du chimérisme humain. Les cytokines humaines inflammatoires sériques et l'infiltration tissulaire par des cellules humaines étaient significativement plus faibles chez les souris traitées avec des Tregs CD73+ DP8 α , par rapport aux souris non traitées. En outre, le côlon était rapidement colonisé par les Tregs DP8 α injectés et préservé chez les souris traitées, alors qu'il était clairement endommagé chez les souris non traitées.

Dans l'ensemble, ces résultats soutiennent fortement le rôle des Tregs CD73+ DP8 α dans la prévention de la GvHD et plaident pour l'utilisation de ces cellules à la fois pour prédire les risques de GvHD et pour le développement de stratégies thérapeutiques innovantes visant à prévenir l'inflammation liée à la GvHD. Ces approches thérapeutiques seraient basées sur la perfusion de Tregs DP8 α et/ou leur stimulation in vivo, par exemple avec des antigènes dérivés de *F. prausnitzii* ou des probiotiques. En outre, les Tregs DP8 α présentent un potentiel de prolifération exceptionnellement élevé et des fonctions immunosuppressives stables in vitro, une caractéristique essentielle pour mettre en œuvre de telles thérapies.

« Implication d'un composant de l'inflammasome des cellules tumorales, NLRC5, dans la modulation de la réponse immunitaire T dans le cancer colorectal chez l'Homme »

Mathilde Deiber, *Equipe 3 "Anti-tumour immunosurveillance and immunotherapy", Immunology and New Concepts in ImmunoTherapy, INCIT, UMR 1302, Nantes.*

L'immunosurveillance du cancer colorectal est gouvernée par des interactions bidirectionnelles entre lymphocytes T infiltrant la tumeur (TILs) et cellules tumorales, complexes et mal connues. Ce projet vise à déterminer si NLRC5 (NOD-like receptor Family CARD Domain Containing 5), par son rôle connu de transactivateur des molécules de la machinerie de présentation antigénique, peut moduler la réponse immunitaire T potentiellement anti-tumorale dans les CCRs. Pour cela, nous avons développé des modèles de co-culture entre TILs isolés de patients atteints de CCR et lignées cancéreuses coliques humaines transfectées de manière stable avec NLRC5. Nos résultats montrent qu'une surexpression de NLRC5 dans les cellules tumorales induit une activité cytotoxique de populations clonales de TILs CD8⁺ (réponse cytokinique, activité de dégranulation), dépendante de la surexpression des molécules du CMH de classe I.



*Retour vers le
résumé des journées*

« Degré de photo-exposition cutanée du mélanome primitif, comme facteur prédictif de survie sans récurrence chez les patients traités par anti-PD-1. »

Javier Saenz, *Equipe 2 « Recherche clinique et translationnelle dans les maladies de la peau prolifératives et inflammatoires », Immunology and New Concepts in ImmunoTherapy, INCIT, UMR 1302, Nantes.*

Ces dernières années, l'immunothérapie par anti-PD-1 s'est révélée efficace dans le traitement du mélanome à un stade avancé, car les mélanomes, connus pour être secondaires à l'exposition aux rayons ultraviolets (UV) mutagènes, portent souvent une charge mutationnelle élevée (TMB), responsable de la génération de multiples néo-épitopes et donc de forte immunogénicité. Ainsi, une charge mutationnelle élevée est corrélée à de meilleurs taux de réponse aux anti-PD-1. A l'inverse, les mélanomes primitifs (plantaires, génitaux...) localisés dans une zone peu ou pas exposée aux UV ont une faible charge mutationnelle corrélée à une faible réponse aux traitements anti-PD-1. Nous proposons un lien entre le degré d'exposition au soleil de la zone cutanée ayant développé un mélanome primitif, le TMB de cette dernière et la réponse des patients à l'immunothérapie par anti-PD-1.



"Immunogénicité des vésicules extracellulaires produites lors d'infections par des virus oncolytiques"

U. Hirigoyen, C. Guilbaud, M. Krejbich, M. Fouet, T. Petithomme, JF. Fonteneau, **N. Boisgerault**

Equipe 1, ITMI, "Immunomodulation of the Tumor Microenvironment and Immunotherapy of Thoracic Cancers", Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Intégrée Nantes Angers, CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Nantes.

Les vésicules extracellulaires (EVs) sont produites par tous les types cellulaires et participent aux communications intercellulaires. Les EVs tumorales modulent ainsi l'activité des cellules voisines ou à distance et ont été décrites comme ayant des activités pro-tumorales (métastases, immunosuppression, résistance). Les infections virales sont connues pour augmenter la production d'EVs mais l'effet des virus oncolytiques, qui infectent préférentiellement les cellules tumorales et activent la réponse immunitaire anti-tumorale, sur ce processus reste méconnu. Dans cette étude, notre objectif est de comprendre comment les OV influencent la production des EVs et leurs fonctions. Nous avons infecté plusieurs lignées humaines de mélanome et de cancers thoraciques avec différents OV (vaccine, rougeole, VSV). Après isolation des EVs par ultracentrifugations différentielles, nous avons montré que les cellules tumorales infectées par des OV produisaient davantage d'EVs et que celles-ci étaient enrichies en protéines immunogènes (ISGs, MHC...). En utilisant un test rapporteur basé sur la recombinaison CRE, nous avons démontré que des EVs mimant celles produites par les cellules tumorales infectées étaient plus efficaces pour transférer leur contenu à des cellules non infectées. Enfin, des clones T CD8+ humains exposés à des EVs issues de cellules tumorales infectées présentaient une augmentation de leurs propriétés cytotoxiques. Nos résultats suggèrent qu'une partie de l'effet thérapeutique des OV pourrait être liée à une modification du contenu protéique des EVs, produites lors de l'infection des cellules tumorales, qui pourraient avoir un impact sur l'immunité anti-tumorale. Des travaux sont en cours pour exploiter activement ces mécanismes en modifiant le génome des OV pour adresser des protéines thérapeutiques vers les EVs qui seront libérées au sein du microenvironnement tumoral.



« Le glycogène, un substrat unique pour la fonction des macrophages »

Najia Jeroundi, Pascale Pignon, Yves Delneste, Dominique Couez, Pascale Jeannin

Equipe 4 "Innate Immunity and Cancer", Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Intégrée Nantes Angers, CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Angers.

Les macrophages (M ϕ) doivent généralement exercer leurs fonctions dans des tissus lésés, tels que le microenvironnement tumoral, avec une faible disponibilité en glucose et en nutriments. Nous avons évalué la capacité des M ϕ humains à stocker du glycogène et de l'utiliser pour assurer leurs fonctions. Nos résultats montrent que les cytokines GM-CSF et M-CSF + IL-4 déclenchent la synthèse de glycogène par les M ϕ de type M1 (GM-CSF + IFN γ) et de type M2 (M-CSF + IL-4). De manière intéressante, seule la combinaison des cytokines inflammatoires GM-CSF et IFN γ induit la néoglycogénèse. Nous avons observé que le glycogène est utilisé de manière préférentielle par les M ϕ pour fonctionner (production de cytokines, phagocytose). Finalement, nous avons observé que les M ϕ associés aux tumeurs (TAM) isolés de cancer ovarien sont capables de glycogénèse et de néoglycogénèse et que les TAM infiltrant l'adénocarcinome pulmonaire présentent des stocks de glycogène. Ces résultats apportent un nouvel éclairage sur la plasticité métabolique des M ϕ et expliquent comment ils peuvent fonctionner dans des sites inflammatoires pauvres en nutriments en ayant recours au glycogène.



Session cellules myéloïdes

« Identification de populations myéloïdes glycolytiques tumorales par analyse de données publiques de scRNA-Seq issues de tumeurs pulmonaires »

Mathieu Rouel, *Equipe 1 « Phagocytes mononucléés, Immunopathologie, Immunovirologie », CR2TI, Centre de Recherche Translationnelle en Transplantation et Immunologie, UMR 1064, Nantes.*

L'acide lactique, produit final de la glycolyse, est retrouvé en forte concentration dans le microenvironnement tumoral. Plusieurs études *in vitro* ont mis en évidence que ce métabolite réduit la prolifération des cellules T, favorise la balance Treg/Teff, et participe à la polarisation des macrophages vers un profil pro-tumoral. Bien qu'il soit généralement admis que l'acide lactique est principalement produit par les cellules cancéreuses, d'autres études suggèrent que les macrophages peuvent également produire de l'acide lactique dans le microenvironnement tumoral favorisant ainsi leur profil protumoral et le contrôle de la réponse effectrice des LT.

En accord avec cette hypothèse, l'objectif de mon projet est d'utiliser des données de single-cell RNA-Seq publiques afin d'identifier et de caractériser une ou plusieurs populations myéloïdes possédant une forte activité glycolytique ainsi que des propriétés protumorales. L'analyse *in silico* de cellules immunes tumorales issues de cancer du poumon a ainsi permis d'identifier clairement deux populations de macrophages glycolytiques. En perspective de ce travail, nous souhaitons isoler ces populations à partir de biopsies de tumeurs pulmonaires afin de valider leurs caractéristiques *in vitro*.



« L'acide lactique est un facteur local modulant le phénotype et le métabolisme des macrophages associés aux tumeurs humains »

Léa Paolini, Equipe 4 "Innate Immunity and Cancer", Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Intégrée Nantes Angers, CRCI²NA – Inserm UMR 1307 – CNRS UMR 6075, Angers.

L'infiltrat des macrophages associés aux tumeurs (TAM) est généralement associé à un mauvais pronostic. Comprendre les mécanismes contrôlant leur polarisation et survie est essentiel pour proposer des stratégies thérapeutiques les ciblant. L'acide lactique (AL) étant en concentration importante dans le microenvironnement tumoral, nous avons évalué son impact sur la polarisation et la survie des M ϕ humains. Nous avons montré que l'AL confère aux M ϕ un phénotype pro-tumoral unique qui associe production de cytokines proinflammatoire (M1) et de facteurs de croissance (M2) et qui est similaire à celui des TAM intratumoraux. L'AL affecte aussi leur métabolisme des M ϕ avec une phase de pseudo starvation entraînant le recours à l'autophagie et mitophagie pour survivre. Finalement, nous avons montré que l'acétoacétate (AcAc), un corps cétonique produit en cas de jeûne, est métaboliser par les M ϕ en acidose lactique et évite autophagie et pseudostarvation. En conclusion, ce travail montre que l'acide lactique est un facteur clé dans la polarisation des TAM qui leur permet d'acquérir un phénotype mixte pro-inflammatoire et pro-tumoral. Il met également en évidence les mécanismes de survie des macrophages en acidose et il identifie l'acétoacétate comme un métabolite qui protège les M ϕ de l'acidose. L'impact de l'AcAc sur le phénotype des TAM est actuellement en cours d'étude.

