

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : CDE
Titre de la thèse : C-NU-Lymphocytes T CAR à logique booléenne pour une éradication efficace des gliomes de haut grade		3 mots-clés : tumeur cérébrale de haut-grade, lymphocytes Td2, cellules T CAR
Unité/équipe encadrante : UMR INSERM 1307/ CNRS 6001 – Equipe PETRY (10)		
Directeur de thèse : C. Pecqueur		N° de tél : 0228080302 Mail : claire.pecqueur@univ-nantes.fr
<p>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</p> <p>Les gliomes de haut-grade (HGG) sont des tumeurs cérébrales très agressives, tant chez l'adulte que chez l'enfant, avec une moyenne de survie de moins de 18 mois dans tous les cas. Si les traitements actuels (chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie) ont permis d'augmenter légèrement la survie des patients adultes, aucun traitement n'est à ce jour efficace chez les enfants. Le développement de nouvelles stratégies, dont l'immunothérapie, est donc indispensable dans ce combat contre les HGG (P. Thomas et al, Clin. Can. Res. 2024). Plusieurs approches d'immunothérapie peuvent être développées. Les plus excitantes ciblent les antigènes associés aux tumeurs, exploitent les points de contrôle immunologique, ou requièrent le transfert adoptif de cellules immunitaires. Dans l'équipe, nous avons montré que certaines cellules de HGG présentes chez l'adulte sont spontanément reconnues et éliminées par les lymphocytes TVδ2 (Chauvin et al. Clin. Can. Res. 2019). Cette reconnaissance spontanée est médiée par l'expression de ligands du récepteur NKG2D par les cellules de HGG. Un transfert adoptif de lymphocytes TVδ2 dans des modèles murins orthotopiques de xénotransgreffe a permis d'augmenter significativement la survie des souris. D'autre part, l'OGD2, la forme O-acétylé du ganglioside GD2, est fortement exprimé dans les tumeurs d'origine neuro-ectodermique comme le neuroblastome (Alvarez-Rueda N, PLOSone 2011). Ces résultats nous ont conduits à développer, en collaboration avec l'équipe d'E. Scotet, des lymphocytes TVδ2 exprimant un récepteur chimérique (CAR) contre l'OGD2. Les résultats préliminaires obtenus avec ces TVδ2-CAR-αOGD2 sur les HGG adulte et pédiatriques sont très encourageants (P. Thomas, BIORXIV 2023). Cependant, plusieurs limites ont émergé : 1) la forte hétérogénéité intra-tumorale, tant cellulaire que moléculaire, des HGG adulte limite l'efficacité des TVδ2-CAR-αOGD2, 2) la faible expression de l'OGD2 dans les HGG pédiatriques limite l'efficacité des TVδ2-CAR-αOGD2, et 3) l'expression du CAR-αOGD2 semble épuiser les TVδ2.</p>		
<p>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</p> <p>Pour surmonter ces limites, nous souhaitons développer 1) élargir le ciblage des HGG en augmentant le nombre de cibles tumorales, et 2) limiter l'épuisement des TVδ2-CAR. Dans ce but, nous souhaitons :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Identifier de nouvelles cibles tumorales, si possible communes aux HGG pédiatriques et adultes - Développer une stratégie de TVδ2-CAR à logique booléenne (activation cytotoxique des TVδ2-CAR uniquement si TOUS les antigènes tumoraux ciblés sont exprimés). - Valider l'efficacité des TVδ2-CAR à logique intégrée dans des modèles précliniques pertinents (tumoroides hétérogènes en 3D et des modèles murins orthotopiques) 		
<p>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Identifier de nouvelles cibles tumorales, si possible communes aux HGG pédiatriques et adultes : à partir de données de séquençage ARN, l'étudiant identifiera plusieurs cibles communes aux HGG pédiatriques et adultes, qu'il validera par la suite par RT-qPCR, immunoblot ou FACS. Plusieurs cibles qu'il reste à valider ont également été identifiées d'après la littérature. - Développer une stratégie de TVδ2-CAR à logique booléenne (activation cytotoxique des TVδ2-CAR uniquement si TOUS les antigènes tumoraux ciblés sont exprimés). Plusieurs constructions de TVδ2-CAR sont en cours de génération, notamment des TVδ2-CAR-ZAP70, TVδ2-CAR-CD28LAT et TVδ2-CAR-CD8SLP-76, chacun reconnaissant une cible spécifique. Ici, l'étudiant s'attachera à caractériser l'immunoréactivité de ces TVδ2-CAR contre des cultures primaires de HGG en tenant compte de leur origine (pédiatrique ou adulte) et de leur sous-type moléculaire (mésenchyme, proneural) ou cellulaire (cellules souches tumorales ou différenciées). Cet axe impliquera des études de FACS, de cytotoxicité au Cr51 et à l'Incucyte. L'ensemble de ces expériences seront réalisées à partir de cultures 2D et 3D. En plus de l'immunoréactivité CAR-dépendante, l'implication de l'immunoréactivité TCR Vδ2 sera également évaluée par l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques et/ou de lignées tumorales modifiées avec la technologie CRISPR-Cas9. - Valider l'efficacité des TVδ2-CAR à logique booléenne dans des modèles précliniques pertinents. Dans le but de valider la pertinence préclinique de notre stratégie, l'efficacité des différentes constructions, seules (TVδ2-CAR-ZAP70) ou en combinaison (TVδ2-CAR-CD28LAT et TVδ2-CAR-CD8SLP-76) sera évaluée dans des systèmes complexes récapitulant notamment l'hétérogénéité tumorale initiale observée à l'origine de leur agressivité. Cette partie inclura notamment des expériences avec des tumoroides 3D complexes et des modèles murins orthotopiques. 		
<p>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pauline Thomas, Maëva Veerasamy, Marine Devinat, Elodie Guiet, Jocelyn Ollier, Pierre Paris, Natacha Entz-Werlé, Catherine Gratas, Béatrice Clémenceau, Stéphane Birklé, François Paris, Claire Pecqueur, Sophie Fougeray. Targeting pediatric High-Grade Gliomas with OAcGD2-CAR Vδ2 T cells. BIORXIV. <i>En revision Clinical Cancer Research</i>. doi: https://doi.org/10.1101/2023.11.17.567375. - P. Thomas, Pierre Paris, Claire Pecqueur. Arming Vδ2 T cells with chimeric antigen receptors. Accepted in Clinical Cancer Research, March 2024 . - Chauvin C, Joalland N, Perroteau J, Jarry U, Lafrance L, Willem C, Retière C, Oliver L, Gratas C, Gautreau-Rolland L, Saulquin X, Vallette FM, Vié H, Scotet E, Pecqueur C. NKG2D Controls Natural Reactivity of Vγ9Vδ2 T Lymphocytes against Mesenchymal Glioblastoma Cells. <i>Clin Cancer Res</i>. 2019 Dec 1;25(23):7218-7228. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0375. Epub 2019 Sep 10. PMID: 31506386. 		
<p>Collaborations nationales et internationales :</p> <p>Collaboration avec E. Scotet et B. Clémenceau, CRCI2NA, Nantes Collaboration avec la French Glioma Bank (A. Clavreul), Angers Collaboration avec M.A. Debily, IGR, Paris</p>		