

RAPPORT SCIENTIFIQUE

| 2022 | 2023 |

FROM SCIENCE TO SOCIETY*



MSD  **VENIR**
améliorer la Vie ENsemble
par l'Innovation et la Recherche

*DE LA SCIENCE À LA SOCIÉTÉ

| FONDS DE SOUTIEN À LA RECHERCHE DANS LES SCIENCES DU VIVANT |



MSDAVENIR

une communauté de talents d'excellence !



Depuis 2015, MSDAVENIR a soutenu et accompagné plus de 370 chercheurs et autres professionnels, issus de toute la France, dans la réalisation de 91 projets de recherche scientifique d'excellence. Tous ces projets sont des expériences humaines, collaboratives et innovantes. Ils rassemblent des équipes transverses qui croisent leurs spécialisations et leurs talents pour construire la recherche la plus ambitieuse. Par leur ouverture, leur courage et leur volonté d'agir, ils constituent la communauté scientifique MSDAVENIR qui fait avancer la recherche et la façon de la repenser pour demain. Nous sommes fiers de les accompagner !



Clarisse LHOSTE

Présidente du Conseil
d'administration de MSDAVENIR

EDITO



Faire rayonner l'excellence de la recherche française : c'est là l'ambition de MSDAVENIR, fonds de soutien à la recherche publique en santé, véritable accélérateur de l'innovation, de la recherche fondamentale jusqu'à la recherche clinique. Depuis sa création en 2015, il ambitionne de faire progresser la connaissance scientifique, favoriser l'émergence de découvertes médicales et améliorer la santé des patients.

Notre conviction est qu'à travers des collaborations public-privé, nous pouvons participer à **stimuler l'écosystème de la recherche scientifique publique sur le territoire**, en donnant aux chercheurs les moyens de pousser leurs travaux toujours plus loin. Sans ce soutien et cet apport de capitaux, ces projets, parfois risqués, ne pourraient être menés, laissant des enjeux de santé publique sans réponse.

Avec en son cœur une vaste communauté pluridisciplinaire, le fonds vise par ailleurs à privilégier la transversalité et la mise en commun des expertises nécessaires au développement des connaissances scientifiques, dans les domaines où les besoins sont forts.

D'une dotation initiale de 75 millions d'euros à sa création, nous avons réaffirmé en 2021 notre volonté de soutenir la recherche en France, en allouant une nouvelle enveloppe de 42 millions d'euros, portant à 117 millions l'investissement total. **Cela permet à plus de 70 laboratoires, institutions et universités publiques et privées de coopérer, pour faire progresser la santé jour après jour.**

Depuis son lancement, le fonds a permis de soutenir **plus de 370 chercheurs en France au travers de 91 projets dans 7 domaines thérapeutiques**. De cette manière, **18 brevets** ont pu être déposés et près de **480 publications** réalisées dans des revues scientifiques internationales de très haut niveau.

MSDAVENIR reste engagé pour aller à la rencontre de nouvelles équipes de chercheurs français afin de leur apporter notre soutien dans des projets innovants, de participer au rayonnement de la recherche française dans la compétition internationale et de répondre à des besoins médicaux non couverts.

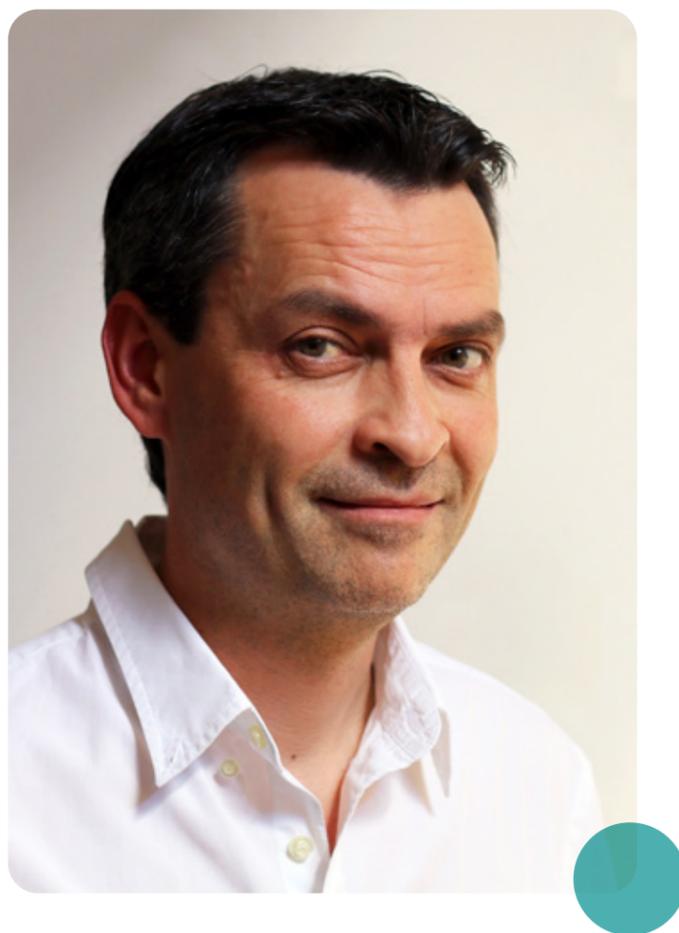
Clarisse Lhoste

Présidente du Conseil
d'administration de MSDAVENIR

INTERVIEW

Philippe PASERO

Directeur de l'IGH



" L'enthousiasme et le dynamisme des jeunes chercheurs, associé à la qualité de l'encadrement assuré par les personnels statutaires, permettent aux équipes de l'IGH de rester compétitives au plus haut niveau, ... "

Comment attirez-vous les jeunes talents ?

Depuis la création de l'IGH il y a 25 ans, nous attirons les jeunes talents au niveau doctoral et postdoctoral en leur proposant des projets de recherche originaux et ambitieux, ouvrant de nouvelles voies pour le traitement du cancer et du SIDA. Nous recrutons également de jeunes responsables d'équipes en leur offrant des conditions de travail optimales dans un institut de renommée internationale, comptant en ses rangs plusieurs leaders dans leurs domaines.

Nous accompagnons les jeunes talents dans leur carrière, notamment en les préparant aux concours du CNRS et en les incitant à établir leurs propres réseaux professionnels via la participation à des conférences internationales et à diverses formations. Toutes ces actions contribuent à maintenir et étendre l'attractivité de l'IGH dans un contexte de plus en plus compétitif.

Quelle place donnez-vous à la jeune génération dans vos équipes ?

Une enquête du réseau national des collègues doctoraux (2023) a récemment montré que près de 70% de la production scientifique dans le domaine des sciences de la vie est directement le fruit du travail des étudiants en thèse. En incluant la contribution des postdoctorants, la jeune génération est donc à l'origine de la plupart des avancées en recherche biomédicale. Il en est de même au sein des équipes de l'IGH, où l'implication d'un grand nombre de chercheurs statutaires titulaires de l'habilitation à diriger des recherches (HDR) permet d'assurer le meilleur encadrement possible pour nos étudiants. Les postdocs de l'IGH bénéficient également d'une grande autonomie et de la possibilité de présenter régulièrement leurs travaux dans le cadre de séminaires internes et de retraites scientifiques.

Au sein des équipes, ils bénéficient également de l'expérience et des conseils des personnels statutaires, qui assurent la transmission et la pérennité de l'expertise technique. Nous les encourageons enfin à partager régulièrement leurs connaissances et leur enthousiasme pour la recherche avec des lycéens et collégiens, dans le cadre de dispositifs tels que « Déclics » ou « Apprentis chercheurs ».

Quels bénéfices cette approche a apporté à vos équipes ?

L'enthousiasme et le dynamisme des jeunes chercheurs, associé à la qualité de l'encadrement assuré par les personnels statutaires, permettent aux équipes de l'IGH de rester compétitives au plus haut niveau, malgré la faiblesse relative du financement de la recherche académique en France.

Dans ce contexte, le soutien du fonds MSDAVENIR est déterminant en permettant à l'IGH de lancer des programmes de recherche très ambitieux et d'attirer de nombreux jeunes talents. Certains de ces jeunes chercheurs sont ensuite partis créer leur propre équipe ailleurs, contribuant ainsi à étendre la renommée de l'IGH et à accroître son attractivité auprès de nouvelles générations de jeunes chercheurs.

Quelle(s) initiative(s) proposeriez-vous pour donner à la jeune génération le goût d'entreprendre en recherche en santé ?

Contre toute attente, l'enquête du réseau national des collègues doctoraux (RNCD) montre que la R&D et la création de start-up arrivent en première place pour les choix de carrière des doctorants en sciences de la vie, à égalité avec la recherche académique.

A l'IGH, nous constatons également une évolution très claire en ce sens, nos doctorants n'envisageant plus la recherche académique comme seule perspective de carrière. Nous les accompagnons dans cette démarche en les encourageant à suivre des formations sur la propriété intellectuelle, les brevets, la valorisation de la recherche et l'entrepreneuriat.

Dans un contexte plus large, l'IGH s'appuie aussi sur une structure associée, l'UAR Genopolys, afin de transmettre aux plus jeunes la passion de ses chercheurs pour la recherche biomédicale.



++
++

++
++



I SOMMAIRE I

Rapport Scientifique 2022/2023



| 1 | PRÉSENTATION DE MSDAVENIR

Mission de MSDAVENIR	p. 12
Notre philosophie & chiffres clés	p. 13
Fonctionnement de MSDAVENIR	p. 14
Les projets soutenus	p. 16



| 2 | MSDAVENIR EN ACTION

Actualités MSDAVENIR	p. 20
Zoom sur la dernière Journée Scientifique MSDAVENIR	p. 22
Zoom sur les nouveaux partenariats : IntraCISH-LTyδ, CH00Can, ICONIC, Hit Hidden HBV, PHENOMENON	p. 24
Interview du Pr Jacqueline CAPEAU	p. 34



| 3 | DOSSIER SCIENTIFIQUE

Les projets MSDAVENIR Dr Golriz PAHLAVAN	p. 38
Synthèse des projets soutenus par MSDAVENIR	p. 40
Les projets clôturés	p. 42
Fiches des projets	p. 44



| 1 |
**PRÉSENTATION
DE MSDAVENIR**

Mission de MSDAVENIR

Améliorer ensemble la vie des patients par la recherche et l'innovation

++
++

Depuis 2015, MSDAVENIR, fonds de soutien pour la recherche dans les sciences du vivant, a pour mission d'accompagner les chercheurs dans l'amélioration de la connaissance scientifique et médicale, pour favoriser l'émergence d'innovation au service des patients.

Notre PHILOSOPHIE

MSDAVENIR repose sur trois principes d'action



OUVERTURE

Avec la volonté de développer des collaborations avec la communauté scientifique et médicale, les instituts et laboratoires de recherche, les universités et fondations.



TRANSVERSALITÉ

Avec une contribution dans tous les domaines thérapeutiques, là où les besoins sont les plus importants.



ORIGINALITÉ

Grâce à la stratégie du fonds et le suivi des projets.



117 M€
d'investissement

91
projets
soutenus

Plus de
370
chercheurs
& autres
professionnels

18
dépôts
de brevets

Près de
480
publications

Fonctionnement de MSDAVENIR



LE CONSEIL D'ADMINISTRATION

définit les orientations stratégiques de MSDAVENIR



Mme Clarisse LHOSTE
Présidente de MSDAVENIR



Mme Aurélie ANDRIEUX-BONNEAU
Administrateur de MSDAVENIR



Mr Pedro COSTA
Trésorier de MSDAVENIR



Mme Myrna PÉRIÈRES
Administrateur de MSDAVENIR



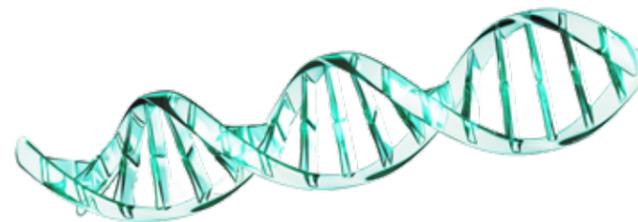
Mme Elise FATOUX
Secrétaire de MSDAVENIR



Dr Golriz PAHLAVAN
Administrateur de MSDAVENIR
Jusqu'en Décembre 2023

++
++

++
++



LE CONSEIL SCIENTIFIQUE

étudie les demandes de soutien de projets



Dr Golriz PAHLAVAN
Présidente du Conseil Scientifique MSDAVENIR
À partir de Janvier 2024



Pr Jacqueline CAPEAU
Consultante Infectiologie
Professeur Émérite à la Faculté de Santé, Sorbonne Université



Dr Dominique BLAZY
Consultant
Président du Conseil Scientifique de 2015 à 2023, Ancien Directeur Médical chez MSD France



Pr Gérard FRIEDLANDER
Délégué Général de la Fondation Université de Paris
Ancien doyen de la faculté de médecine de l'université Paris-Descartes



Dr Anny TIREL, PhD
Consultante
Ancienne Directrice des services médicaux chez MSD France



Pr Jean-Pierre ARMAND
Consultant Oncologie à Gustave Roussy
Ancien Directeur Général de l'Institut Claudius Régaud et de l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse



Dr Jean-Pierre LEHNER
Consultant
Ancien Senior Vice-Président, Chief Medical Officer chez Sanofi

++
++

LE COMITÉ D'INVESTISSEMENT

Afin d'assurer la pérennité et l'efficacité financière de sa dotation en capital, dont les revenus permettent de compléter le financement des programmes scientifiques, le Conseil d'administration de MSDAVENIR s'appuie sur les avis de son Comité d'investissement composé des experts indépendants suivants :

M. Philippe GUAY (Président du Comité)
Ancien Commissaire aux comptes IN EXTENSO

Mme Roseline CHARASSE
Ingénieure patrimoniale au CIC Banque Privé

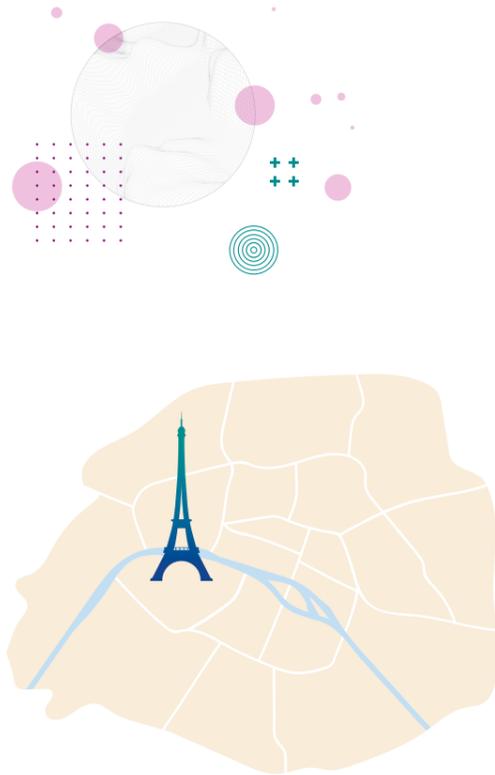
M. Bernard PAULET
Ancien Commissaire aux comptes KPMG



Les projets SOUTENUS

Une initiative d'ampleur nationale

91 projets de collaboration public-privé avec des équipes françaises d'excellence dans le domaine de la recherche en santé.



PARIS

- Fondation Maladies Rares
- AP-HP / Fondation de l'APHP
- AP-HP / INSERM
- CNRS / Université de Paris
- INSERM / Sorbonne Université
- Institut IMAGINE
- Université de Paris / Learning Planet Institute
- Association AIDES
- Institut Pasteur
- ANRS / Consortium / ANRS RHIVIERA / INSERM
- AP-HP
- AP-HP / GH Pitié Salpêtrière
- Fondation de l'APHP
- Institut Curie
- ICM
- AP-HP / Fondation Sorbonne Université / INSERM
- Fondation Sorbonne Université / Sorbonne Université
- INSERM / CHU Cochin / ARDRM
- Institut Gustave Roussy, Villejuif
- Université de Paris - Institut Necker Enfants Malades
- Fondation pour l'Innovation en Cardiométabolisme et Nutrition (IHU ICAN)
- Association Institut de Myologie
- Inserm UMRS 938 - Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA)
- Université Paris Cité
- Fondation de l'APHP - Centre de référence des aplasies médullaires acquises et constitutionnelles - Hôpital Saint-Louis / Université de Paris



DIABÈTE-CARDIOMÉTABOLISME
VASCULAIRE / NÉPHROLOGIE

RHUMATOLOGIE
GÉNÉTIQUE & AUTRES

INFECTIOLOGIE
NEUROLOGIE
ONCOLOGIE
IMMUNOLOGIE



BOULOGNE-SUR-MER LILLE

- Université du Littoral Côte d'Opale / Université de Lille / Fonds de Dotation CRHU Lille

RENNES

- CNRS Rennes / Institut de Génétique & Développement de Rennes

CRÉTEIL

- ANR / INSERM

EVRY

- CERITD

STRASBOURG

- INSERM / CHU Strasbourg
- ICANS - IGBMC - CERBM - Université de Strasbourg - CNRS - INSERM

NANTES

- CHU Nantes
- Université de Nantes - Inserm - AP-HP Bichat - CHU Nantes

BORDEAUX

- CHU Bordeaux / INSERM
- CHU Bordeaux
- Agir pour la télémédecine
- Institut Bergonié
- INRIA Bordeaux / Fondation INRIA

TOULOUSE

- INSERM / CHU Toulouse
- Agir pour la télémédecine
- CHU Toulouse / Gérontopole
- Oncopole Toulouse
- CNRS / IPBS

MONTPELLIER

- CNRS / Institut de Génétique Humaine
- INSERM / IRCM

DIJON

- INSERM / CHU Dijon

LYON

- Centre Léon Bérard, Lyon
- INSERM / CHU Lyon
- Hospices Civils de Lyon
- Fondation France Répît
- CNRS DR Occitanie-Est - INSERM - CIRI, Lyon - IGH, Université de Montpellier

SAINT-ÉTIENNE

- Université Jean Monnet Saint-Etienne

GRENOBLE

- INSERM / CRC Lyon / IAB Grenoble
- INSERM - CNRS - CHU Grenoble Alpes - Université Grenoble Alpes

NICE

- INSERM / CHU Cochin ARDRM

MARSEILLE

- INSERM / Centre d'Immunophénomique
- INSERM / Centre d'Immunologie de Marseille Luminy
- INSERM / Vascular Research Center of Marseille
- ANRS-MIE
- Institut Paoli-Calmettes - Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille
- INSERM



++
++



| 2 |
MSDAVENIR
EN ACTION

Actualités MSDAVENIR



"Avec ses équipes de chercheurs et ses instituts de premier plan, la France dispose d'atouts considérables en matière de recherche en santé. Nous souhaitons, grâce à ce nouvel investissement, cultiver cette approche partenariale et contribuer ainsi à décloisonner la recherche scientifique."

Clarisse Lhoste

PRÉSIDENTE DE MSDAVENIR

Marseille, le 19 octobre 2022



IntraCISH-LTγδ

Cancers et traitements innovants : le projet IntraCISH-LTγδ de l'Institut Paoli-Calmettes reçoit le soutien de MSDAVENIR.

ZOOM p.24

De gauche à droite : Dominique Blazy (Président du conseil scientifique MSDAVENIR), Clarisse Lhoste (Présidente du conseil d'administration de MSDAVENIR, Présidente MSD France), Dr Geoffrey Guittard (Porteur du projet, Institut Paoli-Calmettes), Dr Jacques Nunès (Porteur du projet, Institut Paoli-Calmettes), Pr Norbert Vey (Directeur général de l'Institut Paoli-Calmettes).

Paris, le 9 novembre 2022



5^{ème} édition de la Journée scientifique

Plus de 60 équipes de recherche scientifique de toute la France, et l'ensemble de nos partenaires et institutions se sont réunis à l'Institut Pasteur.

CHOOCan

L'ICANS et MSDAVENIR signent un partenariat pour mieux comprendre les interactions entre les cellules tumorales et leur microenvironnement dans les cancers rares du rein et les tumeurs neuroendocrines.

ZOOM p.26

Nicolas Salvi, Directeur général adjoint, Administrateur suppléant ICANS ; Dominique Blazy, Président du conseil scientifique MSDAVENIR ; Pr Gabriel Malouf, Oncologue médical, Porteur du projet de recherche CHOOCan

Paris, le 21 mars 2023



ICONIC

L'IHU ICAN et MSDAVENIR signent un partenariat pour déterminer l'âge biologique et l'état de santé du cœur et du foie des Français grâce à l'imagerie médicale de pointe dans la cohorte CONSTANCES.

ZOOM p.28

Le Pr Stéphane Hatem, Directeur général de l'IHU ICAN et le Dr Dominique Blazy, Président du conseil scientifique MSDAVENIR

Paris, le 11 mai 2023



Hit Hidden HBV

Le Centre International de Recherche en Infectiologie et MSDAVENIR : une même vision pour guérir l'hépatite B

ZOOM p.30

De gauche à droite : Mme Pascale Saulnier (Déléguée régionale adjointe de l'Inserm Auvergne-Rhône-Alpes), Dr François-Loïc Cosset (Directeur du CIRI), Mme Clarisse Lhoste (Présidente du conseil d'administration MSDAVENIR, Présidente MSD France), Dr Dominique Blazy (Président du conseil scientifique MSDAVENIR), Mme Aurélie De Sousa (Déléguée régionale adjointe du CNRS Rhône Auvergne), Dr Christine Neuveut (Directrice de recherche Inserm à l'IGH), Dr David Durantel (Directeur de recherche Inserm au CIRI).

Lyon, le 14 juin 2023



PHENOMENON

Nantes Université et MSDAVENIR : une même vision face à l'antibio-résistance et aux pneumonies.

ZOOM p.32

De gauche à droite : Pr Aurélien Dinh (Service de Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Raymond-Poincaré, AP-HP), Dr Golriz Pahlavan (Directrice médicale MSD France), Pr Antoine Roquilly (service d'Anesthésie - réanimation CHU de Nantes), Pr Jean-François Timsit (du service de Médecine intensive et réanimation infectieuse Hôpital Bichat - Claude Bernard, AP-HP), Dr Dominique Blazy (Président du conseil scientifique de MSDAVENIR).

Nantes, le 1^{er} décembre 2023



Zoom sur la dernière Journée scientifique MSDAVENIR



Paris, le 9 novembre 2022

Pour cette 5^{ème} édition de la Journée scientifique, l'Institut Pasteur a ouvert les portes de son établissement parisien à la communauté MSDAVENIR.

De nombreuses équipes de recherche en santé, issues de toute la France, s'y sont rassemblées pour un moment d'échange et de partage autour de leurs projets et de leurs domaines thérapeutiques. Durant toute la journée, **plus de 14 projets ont fait l'objet d'une présentation orale** par les chercheurs qui les portent, et les 64 projets soutenus par MSDAVENIR ont été présentés au travers de sessions posters. Le sujet de la table ronde institutionnelle s'est concentré sur un thème fort pour l'avenir de la recherche en santé en France :

DE L'INVENTION À L'INNOVATION : UN LEVIER DE COMPÉTITIVITÉ ET D'ATTRACTIVITÉ POUR LA FRANCE ET LES TERRITOIRES

Pour répondre à cette question, plusieurs personnalités sont venues apporter leur vision du sujet avec notamment : **Pr Stanislas LYONNET** (MD. PhD, Directeur de l'Institut Imagine, Paris) ; **Dr Antonino NICOLETTI** (PhD, Directeur Département UMRS 1148 Université Paris Diderot, Paris) ; **Thomas LOMBES** (Directeur délégué en charge de la stratégie INSERM Transfert) ; **Philippe BERTA** (Député du Gard).



« La recherche fait partie intégrante du processus d'innovation et doit pouvoir être valorisée. Elle contribue par là même à faire rayonner nos territoires et à faire de la France un leader de l'innovation en santé. »

Clarisse Lhoste
PRÉSIDENTE DE MSDAVENIR





ZOOM

Cancers et traitements innovants : le projet IntraCISH-LT $\gamma\delta$ de l'Institut Paoli-Calmettes reçoit le soutien de MSDAVENIR

Marseille, le 19 octobre 2022

Dans le cadre de son nouveau cycle d'investissements en France, le fonds de dotation MSDAVENIR a annoncé aujourd'hui soutenir le projet **IntraCISH-LT $\gamma\delta$** porté au sein de l'Institut Paoli-Calmettes et développé par le Dr Jacques NUNÈS et le Dr Geoffrey GUITTARD.

IntraCISH-LT $\gamma\delta$ est un programme de recherche en cancérologie qui a pour objectif de mieux lutter contre les cancers résistants aux immunothérapies actuelles.

« L'immunothérapie a pris une place majeure dans la prise en charge des cancers mais beaucoup reste encore à accomplir. L'engagement d'équipes de recherche auprès des soignants est un élément clé des progrès à venir. Le projet IntraCISH-LT $\gamma\delta$ est une belle illustration de la dynamique locale et le soutien par MSDAVENIR est le gage de son succès. »

Pr Norbert Vey

Directeur général de l'Institut Paoli-Calmettes.



« Je suis heureuse du soutien apporté par le fonds MSDAVENIR au projet IntraCISH-LT $\gamma\delta$. Grâce à sa qualité et la spécificité de son approche, il met en avant l'ambition de notre fonds de soutenir les équipes de recherche les plus innovantes en France. »

Clarisse Lhoste

Présidente du Conseil d'administration, MSDAVENIR

IntraCISH-LT $\gamma\delta$, une innovation de rupture face aux cancers

Depuis quelques années, l'immunothérapie représente un espoir sans précédent dans le traitement du cancer. L'approche actuelle cible principalement les lymphocytes T cytotoxiques CD8+ en optimisant leurs fonctions antitumorales. L'un des enjeux actuels face aux cancers est d'améliorer la durée de la réponse à ces traitements chez davantage de patients. Un enjeu qui s'inscrit dans le cadre du projet médico-scientifique de l'Institut Paoli-Calmettes et du CRCM (centre de recherche en cancérologie de Marseille).

« Le développement de nouvelles approches thérapeutiques basées sur l'immunothérapie est au cœur du projet médico-scientifique de l'Institut Paoli-Calmettes et du CRCM. Le soutien de ce nouveau projet par le fonds de dotation MSDAVENIR donne un coup d'élan important à nos équipes pour avancer vers un transfert rapide chez le patient. »

Pr Jean-Paul Borg

Directeur scientifique de l'Institut et Directeur du CRCM

Pour répondre à cet enjeu, relever ce défi et surmonter ces résistances aux immunothérapies, l'un des axes thérapeutiques à développer consiste à activer d'autres cellules cytotoxiques, en particulier les cellules T gamma delta ($\gamma\delta$).

De fait, les lymphocytes T $\gamma\delta$ portent de nombreux espoirs en immunothérapie. Ils représentent la population immunitaire offrant le pronostic le plus favorable en cas d'infiltration intratumorale sur un échantillon de 25 types de cancers différents.

Le projet IntraCISH-LT $\gamma\delta$ poursuit donc l'objectif de mieux lutter contre ces cancers en réalisant un criblage du génome entier par CRISPR-Cas9 sur des cellules T $\gamma\delta$ humaines afin d'identifier les gènes importants pour leur activité antitumorale.

« Compte tenu de leur puissante activité antitumorale, cibler les lymphocytes T $\gamma\delta$ représente un apport aux immunothérapies cellulaires innovantes contre les cancers. Notre projet IntraCISH-LT $\gamma\delta$ s'inscrit dans ces stratégies thérapeutiques. »

Dr Jacques Nunès

Co-porteur du projet

Ce projet offrira de nouvelles perspectives en immunothérapie en validant de nouvelles cibles pour le développement de cellules T $\gamma\delta$ génétiquement modifiées. Il s'inscrit dans l'approche de la thérapie cellulaire utilisée en immunothérapie et constitue de ce point de vue une innovation de rupture importante.

« Cette nouvelle approche innovante consiste à modifier l'intérieur d'une cellule immunitaire pour la rendre plus efficace contre le cancer. Ce projet permettra l'identification de la bonne cible dans les cellules T $\gamma\delta$. Cette stratégie pourra être utilisée, nous l'espérons, dans le futur en clinique en combinaison avec les traitements existants. »

Dr Geoffrey Guittard

Co-porteur du projet





ZOOM

L'ICANS et MSDAVENIR signent un partenariat pour mieux comprendre les interactions entre les cellules tumorales et leur microenvironnement dans les cancers rares du rein et les tumeurs neuroendocrines

Le 21 mars 2023

L'ICANS (Institut de cancérologie Strasbourg Europe) et le fonds de dotation à la recherche en santé MSDAVENIR, du laboratoire pharmaceutique MSD France, annoncent la signature d'un partenariat qui vise à cartographier les tumeurs rares à l'échelle de cellules uniques, pour identifier de nouvelles pistes thérapeutiques. Associant les équipes de l'ICANS (Institut de cancérologie Strasbourg Europe), des HUS (Hôpitaux Universitaires de Strasbourg) et de l'IGBMC (Institut de génétique, biologie moléculaire et cellulaire), ce projet intitulé **CHOOCan**, financé à hauteur de 2 millions d'euros, analysera pour la première fois le lien entre l'ontogénie (développement progressif du cancer depuis la cellule d'origine) et la cancérogénèse de deux types de cancers rares : les cancers rares du rein et les tumeurs neuroendocrines.

Le cancer est une maladie hétérogène avec plus d'un millier de sous-types différents survenant dans des organes distincts, à partir de différents types de cellules. Les bases moléculaires de la transformation d'une cellule normale en une cellule cancéreuse diffèrent en fonction de la cellule d'origine. Ainsi, les processus de plasticité mis en place permettant à une cellule « normale » de se transformer en cellule cancéreuse sont peu clairs pour beaucoup de cancers. L'explosion récente des approches personnalisées de traitement des patients atteints de cancer s'appuie sur l'étude des altérations génétiques de la tumeur et de son microenvironnement.



« Ces approches ont considérablement amélioré la survie des patients. Cependant, ces avancées ont été largement possibles pour les cancers fréquents. Force est de constater que pour les cancers rares, représentant près de 20% de l'ensemble des cancers, des avancées minimales ont été réalisées ces dernières décennies. C'est le cas des cancers rares du rein et des tumeurs neuroendocrines. Bien que les techniques de séquençage de nouvelle génération aient fait leur entrée dans la pratique clinique, et malgré les efforts considérables déployés pour disséquer et traiter les sous-types de cancers fréquents, il reste encore beaucoup de progrès à faire pour comprendre les fondements moléculaires des cancers rares permettant de personnaliser le traitement des patients. »

Professeur Gabriel Malouf

Oncologue médical à l'ICANS® et porteur du projet CHOOCan.

Comprendre le lien entre l'ontogénie et la cancérogénèse

Le projet soutenu par MSDAVENIR vise à analyser pour la première fois le lien entre l'ontogénie (développement progressif du cancer depuis la cellule d'origine) et la cancérogénèse, les cancers rares du rein et les tumeurs neuroendocrines. Ceci se fera via le séquençage des tumeurs à l'échelle de cellules uniques. Il s'agit d'un effort sans précédent permettant la génération d'un atlas d'une centaine de tumeurs, avec l'établissement du profil moléculaire de près d'un million de cellules par type de cancer. L'analyse de ces données fera appel à des algorithmes d'intelligence artificielle permettant de déchiffrer les étapes précoces de la formation des cellules cancéreuses, les bases moléculaires de leur plasticité cellulaire et les mécanismes d'échappement au système immunitaire.

Améliorer la survie des patients atteints de cancers rares

A ce jour, il existe au moins une vingtaine de sous-types rares de cancers du rein, pour lesquels il n'y a pas de traitement approuvé dans les formes métastatiques. Il en est de même pour les patients atteints de tumeurs neuroendocrines métastatiques.

« Le projet CHOOCan vise à combler ce vide dans l'état de nos connaissances relatifs à ces deux types de cancers rares et permettra de dresser pour la première fois une cartographie moléculaire des cellules cancéreuses et de leur système immunitaire à l'échelle de cellules uniques. L'objectif visé est la compréhension des interactions essentielles entre les cellules tumeurs et leur microenvironnement, permettant de les exploiter comme des nouvelles cibles thérapeutiques. Le développement des approches bio-informatiques permises par le projet devrait aussi permettre à terme de pouvoir mener des essais cliniques dans ces tumeurs rares, en s'appuyant sur les réseaux nationaux des cancers rares de l'Institut national du cancer. »

Professeur Gabriel Malouf

Oncologue médical à l'ICANS® et porteur du projet CHOOCan.

« Ce programme de recherche en cancérologie offre de nouveaux horizons pour la prise en charge des cancers rares du rein et des tumeurs neuroendocrines, porteurs de nouveaux espoirs pour les patients. Cette étude d'envergure illustre, tout comme les 64 projets de recherche en cours au sein de l'Institut, la dynamique de l'ICANS qui a inscrit le développement de nouvelles approches thérapeutiques au cœur de son projet stratégique Impulsion 2025. L'ICANS porte, avec ses équipes et ses partenaires tels que MSDAVENIR et l'IGBMC, l'engagement et la volonté d'accélérer la conception de traitements toujours plus innovants et personnalisés au bénéfice des patients atteints de cancers. »

Nicolas Salvi

Directeur général adjoint – administrateur suppléant de l'ICANS.

« Nous sommes heureux que le fonds de dotation MSDAVENIR puisse soutenir le projet CHOOCan qui ambitionne de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour mieux lutter contre ces deux cancers rares. »

Clarisse Lhoste

Présidente du Conseil d'administration, MSDAVENIR

« Grâce à son approche partenariale réunissant des acteurs clefs à Strasbourg, ce programme de recherche illustre parfaitement l'ambition de notre fonds, qui est de soutenir les équipes de recherche les plus innovantes en France. »

Dominique Blazy

Président du Conseil scientifique, MSDAVENIR



L'IHU ICAN et MSDAVENIR signent un partenariat pour déterminer l'âge biologique et l'état de santé du cœur et du foie des Français grâce à l'imagerie médicale de pointe dans la cohorte CONSTANCES

Le 11 mai 2023

Le fonds de dotation à la recherche en santé MSDAVENIR, du laboratoire pharmaceutique MSD France, s'engage auprès de l'IHU ICAN pour soutenir le projet **ICONIC** qui vise à constituer un atlas d'imagerie cœur/foie en population générale de 20 à 80 ans. Avec la signature d'une convention de mécénat de 1,2 million d'euros, MSDAVENIR apporte un soutien majeur à la phase pilote de ce projet pour contribuer à la constitution d'un référentiel unique au monde d'imagerie cardiovasculaire et hépatique chez les jeunes adultes de 20 à 40 ans. Le projet ICONIC, porté par le Pr Alban Redheuil, responsable de l'unité d'imagerie cardiovasculaire et thoracique de l'institut de cardiologie de la Pitié-Salpêtrière, sera réalisé sur la plateforme d'imagerie de l'IHU ICAN en association avec la cohorte CONSTANCES de l'INSERM portée par le Pr Marie Zins de l'Université Paris Cité.



Cette rencontre entre imagerie médicale et épidémiologie produira des données de population uniques au monde incluant les jeunes adultes

ICONIC permettra de constituer une large base de données d'imagerie biomédicale adossée à la cohorte épidémiologique nationale CONSTANCES (INSERM). Ces données d'imagerie seront uniques en combinant à partir d'examens non invasifs l'analyse de la structure et de la fonction du cœur, des vaisseaux et du foie à une échelle actuellement inexistante en France. Les données multimodales et multiparamétriques résultantes permettront d'établir les valeurs de nouveaux biomarqueurs d'imagerie dans la population française en fonction du sexe, de l'âge et du profil de risque basé sur les données existantes dans la cohorte CONSTANCES.

Au-delà de l'importance de disposer de données de santé en population, ces données permettront une compréhension nouvelle de l'origine des maladies et du vieillissement, leur détection très précoce, la détermination de nouveaux profils de risque cardiovasculaires et métaboliques individuels et la constitution d'une cohorte d'imagerie multimodale de référence pour la recherche sur les maladies fréquentes et les maladies rares.

Grâce au progrès technologique, l'imagerie joue aujourd'hui un rôle clé dans la compréhension, la détection précoce, l'évaluation pronostique et la prise en charge individualisée des patients. Réalisée sur le plateau de recherche clinique de l'IHU ICAN, cette étude d'imagerie de population va bénéficier des techniques les plus avancées et récentes. Une des particularités de ce projet tient dans l'utilisation exclusive de modalités d'imagerie non invasives : ultrasonore et par résonance magnétique ainsi qu'une exploration conjointe du système cardiovasculaire, hépatique et métabolique. Une autre particularité de ce projet est d'intégrer dans l'étude des personnes à partir de 20 ans, les 20-40 ans étant une partie de la population très peu étudiée à ce jour.



« ICONIC va permettre de construire la première cohorte d'imagerie française en multimodalité à la fois échographie et IRM du cœur, des vaisseaux, du foie, et du tissu adipeux en utilisant les dernières technologies et en intégrant les sujets jeunes de moins de 40 ans de la cohorte Constances. Le soutien de MSDAVENIR est absolument déterminant pour réaliser la phase pilote du projet. »

Pr Alban Redheuil

Responsable de l'unité d'imagerie cardiovasculaire et thoracique de l'institut de cardiologie de la Pitié-Salpêtrière, et Responsable scientifique de la plateforme d'imagerie de l'IHU ICAN.

« ICONIC est la rencontre de deux grandes infrastructures de recherche, la plateforme d'imagerie de l'IHU ICAN et CONSTANCES. Grâce au soutien de MSDAVENIR, nous pourrions ensemble apporter des données cruciales inédites qui permettront d'améliorer la prévention et le traitement de nombreuses maladies cardiométaboliques. »

Pr Marie Zins

Médecin épidémiologiste, enseignant-chercheur à l'Université Paris Cité, Directrice de l'Unité Mixte de Service 011 (Cohortes épidémiologiques en population)

« Nous sommes heureux que le fonds de dotation MSDAVENIR puisse soutenir le projet ICONIC qui ambitionne de créer un atlas unique au monde. Grâce à son approche partenariale avec la Cohorte Constances, ce programme de recherche illustre parfaitement l'ambition de notre fonds, qui est de soutenir les équipes de recherche les plus innovantes en France. »

Dominique Blazy

Président du Conseil scientifique, MSDAVENIR





Hit Hidden HBV, une vision commune pour un objectif international

Guérir l'hépatite B est une ambition forte au niveau international et national. Ainsi, en France, le programme « HBV Cure » est une action coordonnée par le Pr Fabien Zoulim (HCL, Université Claude Bernard Lyon 1) sous l'égide de l'ANRS et de son directeur le Pr Yazdan Yazdanpanah. Au niveau international, il s'agit d'un objectif ambitieux affiché par l'OMS, celui de parvenir à la guérison à l'horizon 2030. Porté par 3 laboratoires français d'excellence (CIRI, IGH et MCD) et coordonné par le Dr David Durantel, chercheur Inserm au Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), le projet « Hit Hidden HBV » (càd « Frapper les parties cachées d'HBV ») s'inscrit pleinement dans les objectifs internationaux et nationaux d'HBV Cure. Il s'agit d'un programme de recherche fondamentale du type « High risk, high gain ». C'est donc un réel pari, celui de la connaissance scientifique. Concrètement, ce projet présente une pluralité de risques, mais son potentiel, et impact réel, est particulièrement fort et important.

« Le soutien apporté par MSDAVENIR au projet « Hit Hidden HBV » représente une respiration supplémentaire en termes de financement de nos travaux de recherche. Il nous donne des moyens additionnels que nous n'avons pas par ailleurs sur ce type de projet risqué. »

Dr David Durantel
Directeur de Recherche INSERM

« Faire le pari de la science est l'essence même de MSDAVENIR. Je suis donc tout particulièrement heureuse du soutien apporté par MSDAVENIR au projet « Hit Hidden HBV ». Son approche innovante et transverse, de Lyon à Toulouse en passant par Montpellier, met en avant l'ambition de notre fonds de soutenir les équipes de recherche les plus innovantes en France. »

Clarisse Lhoste
Présidente du Conseil d'administration, MSDAVENIR

Vers de nouvelles cibles thérapeutiques contre le virus de l'hépatite B

Pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques contre le virus de l'hépatite B, des approches générales et non biaisées d'identification des cibles via différentes méthodologies seront utilisées. Celles-ci vont générer un volume de données à traiter extrêmement important. L'apport des outils bio-informatiques et celui de l'intelligence artificielle seront donc essentiels pour mieux traiter et identifier les cibles au sein des différents « jeu de données » générés. Aujourd'hui, le cycle de vie du virus de l'hépatite B est bien connu. Les équipes emmenées par David Durantel, au sein de « Hit Hidden HBV » savent donc où aller chercher les cibles.

« Cela fait 50 ans que la recherche fondamentale existe sur le virus de l'hépatite B. Comment amener de la nouveauté dans ce domaine ? Comment faire avancer les connaissances pour parvenir à la guérison ? Nous pensons que la génération de données nouvelles par des approches innovantes et l'utilisation de technologies de « data mining » drivées par l'intelligence artificielle peuvent nous aider à identifier des cibles au sein du cycle de vie du virus. »

Dr David Durantel
Directeur de Recherche INSERM

Deux entités du cycle de vie du virus au cœur du projet

La première entité visée est l'épisode du virus, c'est-à-dire une forme de réplication du virus qui se trouve dans le noyau des cellules infectées. Elle est la matrice de toutes les transcriptions. C'est à partir de ce point que le cycle de vie du virus se réalise. Cet épisode se nomme ADNccc (ADN circulaire clos de façon covalente). Si on est capable d'éliminer cet ADNccc, la guérison totale des patients serait possible. L'ADNccc est donc une cible majeure. L'autre cible majeure, la seconde entité, se compose de tous les ARN qui sont fait à partir de cet ADNccc. Qu'il s'agisse donc de l'ADNccc ou du pool des ARN HBV, si l'un ou l'autre est détruit on pourrait guérir potentiellement les patients. Pour parvenir à cet objectif, « Hit Hidden HBV » ambitionne donc de mieux comprendre la biologie de l'ADNccc et la biologie des ARN HBV. Un virus ne peut pas se répliquer sans la cellule. Il est dépendant de celle-ci en tant que parasite de la cellule. Il utilise des fonctions cellulaires ou, plus précisément, il détourne des fonctions cellulaires pour les réadapter à ses besoins. Mieux comprendre la biologie, c'est donc mieux identifier les fonctions cellulaires détournées par le virus, autrement dit de nouvelles fonctions que nous ne connaissons pas encore. Sur cette base, dans le futur, il serait possible de développer une stratégie antivirale innovante. Innovante car elle ne ciblera pas le virus directement mais ces fonctions supports. Ce ciblage des fonctions supports pourra se combiner avec d'autres approches antivirales et, comme cela existe pour le VIH, il serait donc envisageable de développer des combinaisons thérapeutiques de plusieurs molécules, de plusieurs médicaments. Ainsi, il est imaginable de prendre un antiviral direct, comme ceux ciblant la polymérase du virus, l'une des enzymes du virus, comme c'est déjà fait actuellement mais sans être suffisant pour parvenir à la guérison. Il faut ainsi le combiner avec ces nouvelles approches antivirales non-conventionnelles développées via le projet « Hit Hidden HBV ».

« Hit Hidden HBV porte une ambition forte en termes de recherche fondamentale. Il a le potentiel de contribuer de façon très significative à la guérison de l'hépatite B et apporte également une nouvelle vision de la recherche en infectiologie. »

Dominique Blazy
Président du Conseil scientifique, MSDAVENIR

Le Centre International de Recherche en Infectiologie et MSDAVENIR : une même vision pour guérir l'hépatite B



Lyon, le 14 juin 2023

MSDAVENIR, le principal fonds de dotation en Europe dédié à la santé et aux sciences du vivant, et le CNRS signent un partenariat pour soutenir une initiative conjointe du Centre international de recherche en infectiologie (CNRS / Inserm / Université Claude Bernard Lyon 1 / ENS de Lyon), de l'Institut de génétique humaine (IGH-CNRS / Université de Montpellier) et du Centre de Biologie Intégrative (CBI-CNRS / Université de Toulouse). D'un montant total de 2,7 millions d'€ sur 42 mois, le projet **Hit Hidden HBV** a pour objectif de mieux comprendre la biologie de l'ADNccc et des ARN du virus de l'hépatite B afin de parvenir à la guérison.





ZOOM

Nantes Université et MSDAVENIR : une même vision face à l'antibiorésistance et aux pneumonies

Nantes, le 1^{er} décembre 2023

MSDAVENIR, le principal fonds de dotation en Europe dédié à la santé et aux sciences du vivant, soutient un projet de recherche coordonné par Nantes Université et associant le CHU de Nantes ainsi que l'AP-HP (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris). D'un montant total de près de 1,8 millions d'€ sur 48 mois, le projet **PHENOMENON** a pour objectif de comprendre le rôle encore méconnu du microbiome respiratoire dans le cadre de l'antibiorésistance afin de renforcer la lutte contre la pneumonie.

PHENOMENON, une ambition partagée face à un enjeu de santé publique sans cesse croissant

La mortalité des personnes hospitalisées atteintes de pneumonie communautaire (PC) est et reste toujours élevée. Elle atteint environ 25 % chez les patients intubés, ceux nécessitant les soins les plus intensifs. De plus, les pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) sont l'une des affections nosocomiales graves qui survient fréquemment chez les patients hospitalisés en unités de soins intensifs (USI), et dont les échecs de traitement concernent 30 % des patients. Elles augmentent également les durées d'hospitalisation de 7 jours en moyenne.

Porté par deux responsables d'équipe de recherche française (le Pr Antoine Roquilly, Nantes Université, CHU de Nantes, Inserm-UMR 1064-CR2TI et le Pr Jean-François Timsit, Unité de médecine intensive réanimation des maladies infectieuses, Hôpital Bichat (AP-HP), Inserm U 1137, Université Paris-Cité, site santé Bichat), le programme de recherche « PHENOMENON » a pour objectif d'étudier le lien entre la composition du microbiome respiratoire et la réponse au traitement antibiotique, en termes de succès clinique et microbiologique mais aussi d'émergence de résistance aux antibiotiques.

À noter, si le microbiote intestinal est connu et son rôle dans différentes maladies de plus en plus documenté, l'étude du microbiote respiratoire et plus encore microbiome est récente. De fait, l'équipe réunie dans le cadre de PHENOMENON est la seule équipe au monde à l'étudier dans des cohortes multicentriques sur des durées prolongées de plusieurs mois. De plus, le lien entre le résistome, la composition du microbiome respiratoire et la réponse au traitement antibiotique sera étudié pour la première fois dans le cadre de PHENOMENON.

« Ces spécificités font de PHENOMENON un programme de recherche de type "hauts risques, hauts gains". Autrement dit, son potentiel et son impact sont particulièrement forts face aux défis soulevés par le développement de l'antibiorésistance et des fréquents échecs des traitements actuels. »

Pr Antoine Roquilly

Co-porteur du projet, Service d'Anesthésie-réanimation du CHU de Nantes.

MICROBIOTE OU MICROBIOME ?

Le microbiote est l'assemblage des micro-organismes (bactéries, archées, champignons, protistes, algues) présents dans un environnement précis (exemple : le microbiote respiratoire fait référence au microbiote présents dans les poumons, les voies respiratoires). Pour sa part, le microbiome désigne l'ensemble des génomes et des gènes des membres d'un microbiote dans un habitat spécifique.

PHENOMENON, une conjonction d'expertises

Des études récentes ont montré que malgré des traitements antimicrobiens répondants au standard des soins, les échecs thérapeutiques restent fréquents. Des échecs que la microbiologie traditionnelle ne parvient pas à expliquer. PHENOMENON repose donc sur l'hypothèse que la composition du microbiome respiratoire au départ est intimement associée aux risques d'émergence de résistance et donc d'échec thérapeutique chez les personnes touchées par la pneumonie.



« Face à ces contacts, nous devons avoir une approche multi-expertises : experts de la pneumonie, microbiologistes spécialistes de l'antibiorésistance, du microbiome et du résistome, experts de la recherche translationnelle et des modèles animaux de dysbioses pulmonaires. Cette approche multicentrique, de Nantes à Paris, est l'une des forces de PHENOMENON. »

Pr Jean-François Timsit

Co-porteur du projet, chef du service de Médecine intensive et réanimation infectieuse Hôpital Bichat - Claude Bernard, AP-HP

Tout l'enjeu de PHENOMENON réside dans la démonstration qu'une modification spécifique du microbiome, fondée sur des sous-phénotypes de pneumonies communautaires ou acquises sous ventilation définies en fonction de la présence de gènes de résistance aux antibiotiques, peut améliorer la prise en charge de la pneumonie, l'infection respiratoire la plus fréquente au niveau mondial.

« La réponse que peut apporter PHENOMENON face à l'antibiorésistance est d'autant plus importante qu'elle peut largement influencer la pratique quotidienne des professionnels de santé face à la pneumonie et donc changer la donne pour des centaines de milliers, voire des millions de patients. Rappelons que l'antibiorésistance pourrait devenir la principale cause de décès dans le monde d'ici 2050. Je suis donc particulièrement heureuse du soutien apporté par MSDAVENIR à ce projet. »

Dr Gobriz Pahlavan

Administratrice de MSDAVENIR, Directrice médicale MSD France.

DE L'INFINIMENT PETIT... EXTRÊMEMENT PRÉSENT !

Notre tube digestif abrite pas moins de 10^{e13} micro-organismes, soit autant que le nombre de cellules qui constituent notre corps. Cet ensemble de bactéries, virus, parasites et champignons non pathogènes constitue notre microbiote intestinal (ou flore intestinale). Pour sa part, si le microbiote respiratoire est constitué d'un ensemble nettement moins nombreux de micro-organismes, ceux-ci se comptent toutefois en plusieurs centaines de milliers, il semble que sa biodiversité bactérienne soit plus importante.



Nantes Université

Inserm

ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

MSDAVENIR

INTERVIEW

Pr Jacqueline CAPEAU

Professeur Émérite à la Faculté de Santé,
Sorbonne Université et membre du
conseil scientifique MSDAVENIR



Que représente pour vous MSDAVENIR ?

L'opportunité d'évaluer des projets de recherche biomédicale et en santé de qualité, de les soutenir s'ils le méritent en leur accordant un financement significatif, afin de faire avancer la recherche dans de nombreux domaines d'intérêt. Cependant, malgré les volumes financiers accordés lors des deux enveloppes de dotation, MSDAVENIR reste insuffisamment connu au sein de la communauté médicale et scientifique.

Quel est votre rôle d'expert au sein de ce conseil ?

Je viens du monde académique et médical (professeur des universités praticien hospitalier). J'exerce toujours une activité de recherche et je participe dans mon équipe à l'élaboration des nouveaux projets, à l'analyse et à la discussion des résultats et à la rédaction des

articles scientifiques. De plus, j'exerce depuis longtemps des activités d'expertise dans le domaine biomédical : analyse de demandes de financements en France et à l'étranger, relecture d'articles scientifiques, participation à des commissions nationales de recherche (INSERM, ANRS). Je suis actuellement chargée de mission pour la recherche biomédicale dans la Faculté de Santé de Sorbonne Université.

Je pense que j'apporte dans ce conseil une expertise scientifique dans plusieurs aspects de recherche fondamentale et préclinique qui complète l'expertise des autres membres. L'évaluation des dossiers représente un travail conséquent et bénévole. Le conseil scientifique travaille en toute indépendance et ses choix prioritaires sont respectés. Cet aspect est essentiel à la poursuite de mon travail d'expertise.

A l'issue de l'engagement de cette deuxième enveloppe de dotation, que reprenez-vous des projets revus en évaluation.

Quels sont les critères majeurs qui ont encouragé vos décisions ?

Nous avons eu à évaluer un grand nombre de projets dont tous ne pouvaient être financés. Venant du monde académique et des financements publics de type ANR, les montants financiers attribués sont très conséquents permettant de clairement faire le « break » dans le domaine de recherche concerné.

Le choix du conseil a porté en priorité sur le caractère innovant du projet proposé, la qualité scientifique du projet, la couverture d'un domaine médical peu exploré et sur la capacité de l'équipe ou des équipes de recherche à proposer des objectifs définis, pertinents et réalisables. Nous évaluons les documents transmis sans auditer les porteurs de projet. De plus, bien que certains porteurs aient une renommée internationale incontestable, le conseil ne transige pas sur la qualité du dossier.

A l'issue de cette deuxième enveloppe, le conseil scientifique a soutenu des projets de grande envergure réalisés dans des centres médicaux ou de recherche prestigieux et menés par des leaders incontestés. Le financement MSDAVENIR vient compléter d'autres financements conséquents déjà obtenus par l'équipe. A coup sûr, ces études vont aboutir à des travaux de haut niveau auxquels MSDAVENIR sera associé avec d'autres.



" Le conseil scientifique a soutenu des projets de grande envergure réalisés dans des centres médicaux ou de recherche prestigieux et menés par des leaders incontestés. "

Mais nous avons soutenu également des projets ambitieux et innovants menés par des chercheurs plus juniors, avec une prise de risque certaine. Souvent pour ces chercheurs le financement MSDAVENIR représente le financement majeur de ce projet qui ne peut être réalisé sans cette aide. Cette capacité d'aider des jeunes chercheurs à émerger est pour moi une profonde satisfaction.

Dans les choix réalisés, nous avons aidé des projets dans de nombreux domaines de recherche biomédicale et en santé et dont les porteurs sont répartis sur tout le territoire national. Le portefeuille des molécules thérapeutiques de MSD n'a pas été pris en considération.

Le bilan montre des réussites scientifiques incontestables en termes de publications et de valorisation mais également en termes de ressources humaines avec le recrutement sur des postes pérennes de jeunes chercheurs, enseignants-chercheurs et techniciens-ingénieurs grâce aux travaux soutenus par MSDAVENIR.

Si vous deviez décrire MSDAVENIR en 3 phrases ?

MSDAVENIR est une fondation qui a vocation à soutenir l'innovation en santé qu'elle soit portée par la recherche biomédicale ou sociétale.

Le niveau des financements accordés permet de réaliser des projets d'envergure.

MSDAVENIR représente un modèle vertueux de partenariat public-privé.



| 3 |
DOSSIER
SCIENTIFIQUE

Les projets MSDAVENIR



Dr Golriz PAHLAVAN

PRÉSIDENTE DU CONSEIL SCIENTIFIQUE DE MSDAVENIR

MSDAVENIR, un soutien continu qui fait avancer la recherche scientifique de pointe

Depuis 2015, nous avons réussi à intégrer **91 projets** de recherche en France au sein de MSDAVENIR et **plus de 370 chercheurs**, qui soutiennent ces projets, sont rémunérés grâce à MSDAVENIR.

18 brevets ont pu être enregistrés et **près de 480 publications** scientifiques de niveau international ont été publiées. Le bilan est très positif, et montre non seulement la réactivité de MSDAVENIR face aux propositions de soutien mais aussi le dynamisme de la recherche en France.

Aussi, l'une des spécialités de MSDAVENIR est de favoriser et de stimuler la transversalité entre les équipes de recherche en créant des projets complexes dans lesquelles les spécialités médicales se rencontrent. Infectiologues, neurologues, oncologues, neurochirurgiens, biologistes... travaillent en cohésion sur des projets d'envergure. MSDAVENIR constitue une grande université où le savoir se partage.

Nous avons également eu à cœur de présenter MSDAVENIR comme un modèle de collaboration public-privé. En tant que structure privée, nous favorisons des projets de recherche entre des laboratoires publics. Nous sommes donc la structure qui vient faire l'intermédiaire entre les différentes parties et les différents bénéficiaires, cliniques et administrations.



SYNTHÈSE

des projets soutenus par MSDAVENIR

Diabète-cardiométabolisme Vasculaire / Néphrologie

STIMULATION DU LIGNAGE 46

Et de la fonction endocrine intestinale dans les maladies métaboliques

PARIS : INSERM - Sorbonne Université

CKD STOP 47

Maladies rénales chroniques : des gènes modificateurs aux nouvelles stratégies thérapeutiques

PARIS : Université Paris Cité

DESCENDANCE 48

Diagnostic prédictif du diabète

EVRY : CERITD

WDDS (WORLD DIABETES DISTRESS STUDY) 49

Etude mondiale de la détresse liée au diabète à l'aide de méthodes d'Intelligence Artificielle

PARIS : INSERM

SURVI 50

Structure d'URgences Vasculaires Intestinales

PARIS : AP-HP

iTRANSPLANT 51

Intelligence Artificielle pour une médecine de précision

PARIS : Fondation de l'APHP

INDUCTION DES CELLULES β 52

Restauration d'une masse de cellules β fonctionnelle au cours du diabète

PARIS - NICE : ARDRM

ICONIC 53

Imagerie Cardio-métabolique dans la Cohorte Constances

PARIS : Fondation pour l'Innovation en Cardiométabolisme et Nutrition (IHU ICAN)

ENDOMETABO 54

Central PTH/PTHrP signalling, New leverage axis for the treatment of anorexia / metabolic

PARIS : Université Paris Cité - Institut Necker Enfants Malades

PPI-Fc 56

Prévention du diabète de type 1 et traitement de l'allergie à l'insuline par vaccination intranasale avec une protéine de fusion préproinsuline-Fc

PARIS : INSERM - Univ. Paris Cité - Inst. Cochin - CNRS - APHP

BIHAPI 57

Biomarqueurs Innovants des Hypertensions Artérielles Pulmonaires par l'Imagerie

PARIS : INSERM - Université Paris-Saclay - CEA

XENOTRANSPLANT 58

Développement d'outils innovants de médecine de précision pour accélérer les essais cliniques en xénotransplantation chez l'Homme

PARIS : Fondation de l'APHP

Rhumatologie

ADIM 60

L'adiposité médullaire : un nouveau tissu

BOULOGNE-SUR-MER - LILLE : MABLAB - Université du Littoral Côte d'Opale - Université Lille

MICROBONE 62

Microbiote et Os

LYON : INSERM - CHU Lyon

Génétique / Autres projets

AUTOGEN 64

Génétique et auto-immunité

STRASBOURG : INSERM - CHU Strasbourg

OMIN 65

Observatoire national des Morts Inattendues du Nourrisson

NANTES : CHU Nantes - ANCREMIN - CIC Nantes - INSERM

DEVO-DECODE 66

Génétique et maladies rares

PARIS : Institut IMAGINE

BIO 3DHE 67

Cœur / Œsophage

PARIS : Fondation de l'APHP - Hôpital Saint-Louis

RÉPIT 68

Évaluation de l'offre de répit aux aidants

LYON : Fondation France Répit

SYSBIO-CF 69

Technologies multi-omiques, biologie des systèmes et IA pour l'identification de nouvelles thérapies dans la mucoviscidose

PARIS : Fondation Maladies Rares - Institut Necker Enfants Malades - Mines-ParisTech

STRONG 70

Sarcopénie treatment based on GDF5

PARIS : Association Institut de Myologie

Infectiologie

VIR-OH 72

Pertinence d'un prélèvement viral positif en réanimation

PARIS : APHP - Institut PAOLI CALMETTES

MITOPHAGIE 73

Impact de la ventilation mécanique sur les pneumopathies aiguës

DIJON : INSERM - CHU Dijon

PLAQSIS 74

Rôle des plaquettes sanguines à la phase aiguë du sepsis

BORDEAUX : CHU Bordeaux - INSERM

MARVIN 75

Une application connectée pour améliorer les soins du VIH

PARIS : Hôpital Saint-Antoine - Fondation de l'APHP

ENSEIGNEMENT PAR LA RECHERCHE 76

Nouvelles approches dans le design d'antibiotiques anti-mycobactériens

PARIS : Learning Planet Institute - Université de Paris

INTRANZIGEANT 77

Étude INtégrée de la TRANsmission du virus Zika pour l'identification de mécanismes GÉNétiques et de nouvelles cibles ANTivirales

PARIS : Institut Pasteur

HitHiddenHBV 78

Towards HBV Cure: Understanding HBVccc DNA persistence and expression

LYON - MONTPELLIER : CNRS DR Occitanie-Est - INSERM - CIRI, Lyon - IGH, Université de Montpellier

LatentToxoDiag 79

A new diagnostic toolbox for serodetection of persistent parasites for better management of toxoplasmosis in human medicine

GRENOBLE : INSERM - CNRS - CHU Grenoble Alpes - Université Grenoble Alpes

PHENOMENON 80

Definition of sub-phenotypes of pneumonia based on the respiratory microbiome composition to predict microbial and clinical treatment failures

NANTES : Université de Nantes - INSERM - APHP Bichat - CHU Nantes

ARBOGEN 81

Advancing research on severe dengue through large-scale ARBOvirus GENomic tracking

MARSEILLE : ANRS-MIE

UNADISC 82

Unlocking bioactive natural products discovery through computational and synthetic biology

PARIS : INSERM - Learning Planet Institute

AMÉTHYST 83

La méthylation du génome de l'hôte : un outil de triage dans le dépistage du cancer anal

PARIS : Fondation de l'APHP

Neurologie

SAVE BRAIN 85

AVC, effets secondaires de la reperfusion

PARIS : INSERM

CERMAD 86

Maladie d'Alzheimer et parcours clinique

PARIS : Fondation de l'APHP

CogFrail 87

Lien entre fragilité, déficiences cognitives et signes neurologiques de la maladie d'Alzheimer

TOULOUSE : CHU de Toulouse - Toulouse Gérontopole

MEMORA 88

Dépendance et maladie d'Alzheimer

LYON : Hospices Civils de Lyon

SONOSLA 89

Approche thérapeutique d'ouverture transitoire répétée de la barrière hémato-encéphalique dans la SLA / Maladie de Charcot

PARIS : Fondation Sorbonne Université - Sorbonne Université - APHP

Oncologie

MEKANOS 91

Évaluation de la résistance mécanique de l'os tumoral

LYON : Hospices Civils de Lyon - INSERM

MI-RIOT 92

Cellules lymphoïdes innées et cancer

MARSEILLE : CIML - INSERM

Association de l'inflammation liée à la COVID-19 avec l'activation de l'axe C5a-C5aR1

MARSEILLE : CIML - INSERM

CD146 soluble, outils diagnostics et cibles thérapeutiques

MARSEILLE : Centre cardiovasculaire et nutrition - INSERM

ERiCAN 95

Reprogrammation Epigénétique de la Plasticité Cellulaire et de la Résilience des Cancers

LYON - GRENOBLE : INSERM - CRC Lyon - IAB Grenoble

IDeATion 96

Cancers et immunodépression

PARIS : Sorbonne Université - Fondation Sorbonne Université - APHP - INSERM

HEART 97

Tumeurs rares et médecine personnalisée

BORDEAUX : Institut Bergonié

IMMANENCE 98

Complexité du contexte immunitaire des cancers ORL

TOULOUSE : Centre de recherche en cancérologie & Institut universitaire du cancer - ONCOPE

IMMUNOME 99

The human cancer immunome

PARIS : Institut Gustave Roussy

MICCHADO OSTEOSARCOMA 100

Caractérisation moléculaire et immunologique des cancers pédiatriques à haut risque, au diagnostic, pendant le traitement et le suivi

PARIS : Institut Curie

IMMUNOTET 102

Caractérisation immunologique et génomique des Tumeurs Epithéliales Thymiques (TETs)

PARIS : Institut Curie

RNAcan! 103

Scaffolding RNAs in cancer biology

MONTPELLIER : CNRS DR Occitanie-Est - Institut de génomique humaine (IGH)

INTRACISH-LT γ δ 104

Cibler et identifier les protéines inhibitrices intracellulaires de signalisation des lymphocytes cytotoxiques T γ δ pour un bénéfice en immunothérapie

MARSEILLE : Institut Paoli-Calmettes - Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille

CHOOCan 105

Charting Ontogeny and Oncogenesis of Rare Cancers and Dissection of their Associated Tumor Microenvironment at the single-cell resolution

STRASBOURG : ICANS - IGBMC - CERBM - Université de Strasbourg - CNRS - INSERM

MSICare 106

Détection de l'Instabilité Microsatellitaire dans les Cancers Humains Défectifs en Réparation des Erreurs de Réplication de l'ADN par Séquençage de Nouvelle Génération

PARIS : Inserm UMRS 938 - Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA)

EpiMuM-3D 108

Tumorigenèse des cellules B matures : des mécanismes moléculaires aux patients

MONTPELLIER : IGH - CNRS - Université de Montpellier

SIGNALOPATHIES 109

Soigner les signalopathies

PARIS : Université Paris Cité

HOLOGRAM 110

Deciphering cellular and molecular Heterogeneity in Low-Grade serous ovarian cancer for new treatments

PARIS : Institut Curie

VIRONMENT 111

Microenvironnement tumoral associé aux virus : caractérisation et mécanismes immunologiques de résistance aux traitements antitumoraux

PARIS : Fondation Sorbonne Université - Sorbonne Université - APHP

BC-DigitalPath 112

On our way to the 30's: building a world-class multi-omics spatial breast cancer database

PARIS : Institut Curie

SNIFE 113

Stratification and Interception of Preneoplasia

LYON : Centre Léon Bérard - CRCL

TBC 114

Treating Breast Cancer

MARSEILLE : INSERM

DOG-MELANOMA 115

Caractérisation des mélanomes canins comme modèles « fidèles » de sous-types de mélanomes humains : enjeux génétiques et thérapeutiques

RENNES : CNRS Rennes - Institut de Génétique & Développement de Rennes

Immunologie

ENERGISED 117

Impact du microbiote intestinal sur le métabolisme énergétique des cellules hôtes : Rôle dans la santé et dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

PARIS : Fondation Sorbonne Université - APHP - Sorbonne Université

HAPLOGREF 118

Allogreffe haplo-identique : un donneur pour tous !

PARIS : Fondation de l'APHP - Centre de référence des aplasies médullaires acquises et constitutionnelles - Hôpital Saint-Louis - Université de Paris

IMMUNO-CLONE 120

Characterization of Auto-Immunity and Auto-Inflammation Associated with Clonal Hematopoiesis

PARIS : Institut IMAGINE - Université Paris Cité - Institut Necker Enfants-Malades - Saint-Antoine Sorbonne Université

Les projets CLÔTURÉS

Diabète-cardiométabolisme Vasculaire / Néphrologie

CARMMA

Étude du vieillissement du tissu adipeux

PARIS : ANR - INSERM

GSK3β ET DIABÈTE

Inflammation et diabète

PARIS : B2PE - CNRS - Université de Paris

Rhumatologie

BIORIC

Biomarqueurs associés à la réponse aux anti-TNF dans les rhumatismes inflammatoires

TOULOUSE : INSERM - CHU Toulouse

ADIM

L'adiposité médullaire : un nouveau tissu

BOULOGNE-SUR-MER - LILLE : Fonds de Dotation CRHU Lille

iCARE SpA

Mécanismes pathogéniques et facteurs prédictifs de la réponse au traitement biologique dans la SPA

PARIS : Fondation de l'APHP

Génétique / Autres projets

UNIVERSITÉ DES PATIENTS

Et si on diplômait les malades ?

PARIS : Sorbonne Université - Fondation Sorbonne Université

Infectiologie

p-VISCONTI

Rémission Infection VIH

PARIS : ANRS - Consortium ANRS RHIVIERA - INSERM

BIRDY

Étude de cohorte pédiatrique au Cambodge

PARIS : Institut Pasteur

PIBnet

Création d'une biobanque internationale

PARIS : Institut Pasteur

FIGHT-TB

Vers des stratégies non conventionnelles pour le traitement de la tuberculose

TOULOUSE : IPBS - CNRS

HIDE INFLAMME & SEQ

Persistence du VIH et de l'inflammation chronique

MONTPELLIER : CNRS - Institut de Génétique Humaine (IGH)

PROVIR

Vaccination VIH thérapeutique

BORDEAUX : CHU Bordeaux

SlgA

Immunité muqueuse et vaccination

SAINT-ÉTIENNE : Université Jean Monnet

WEFLASH

Santé sexuelle et parcours de soin

PARIS : Association AIDES

Neurologie

THALIE

Assistant virtuel intelligent pour le suivi des troubles cognitifs

TOULOUSE - BORDEAUX : Agir pour la TéléMédecine - SIMSOFT HEALTHCARE

PARIS MÉMOIRE VIVE

Étude des troubles post-traumatiques

PARIS : APHP - GH Pitié Salpêtrière

MINI-AD

1^{ère} plateforme française d'organoides de cerveau dédiée à la maladie d'Alzheimer

PARIS : ICM

Oncologie

GnoStiC

Cancer et résistance aux chimiothérapies

MONTPELLIER : CNRS - Institut de Génétique Humaine (IGH)

MI-RIOT

Macrophages, CD163 et cellules pancréatiques

MARSEILLE : CIML - Marseille - INSERM

Voies de signalisation suppressive de l'immunité anti-tumorale

MARSEILLE : AMU - INSERM - CNRS - Marseille

THRusT

Cancer colorectal, évolution de l'hétérogénéité clonale, test sanguin

MONTPELLIER : INSERM - IRCM

MiTest

Évaluation d'un test sanguin sur ADN circulant de dépistage en oncologie

MONTPELLIER : INSERM - IRCM



D-IA-Gnose

L'intelligence artificielle appliquée au diagnostic des cancers rares et complexes chez l'homme : une étude de preuve de concept

LYON - PARIS : Centre Léon BÉRARD, Lyon - OWKIN, Paris

GENE-IGH

Contrôle génétique et épigénétique de la stabilité du génome

MONTPELLIER : CNRS - IGH Montpellier



PIMIENTO

Amélioration du suivi du cancer du poumon par l'IA

PARIS - BORDEAUX : Fondation de l'INRIA - INRIA Bordeaux

SHIVA02

Traitement ciblé sur les altérations génétiques tumorales

PARIS : Institut Curie

" MSDAVENIR, un soutien essentiel ayant permis d'être plus reconnu à l'internationale (chairman au Congrès de l'International AIDS Society en 2022). "

++
++

" MSDAVENIR a permis d'explorer de nouvelles pistes sur des sujets risqués dans des domaines très compétitifs. Son soutien a également constitué un tremplin pour la carrière de plusieurs jeunes chercheurs impliqués dans le projet. "

" Nous avons bénéficié d'une écoute attentive de la part de MSDAVENIR ce qui nous a permis d'être aidés de la façon la plus appropriée possible. "

++
++

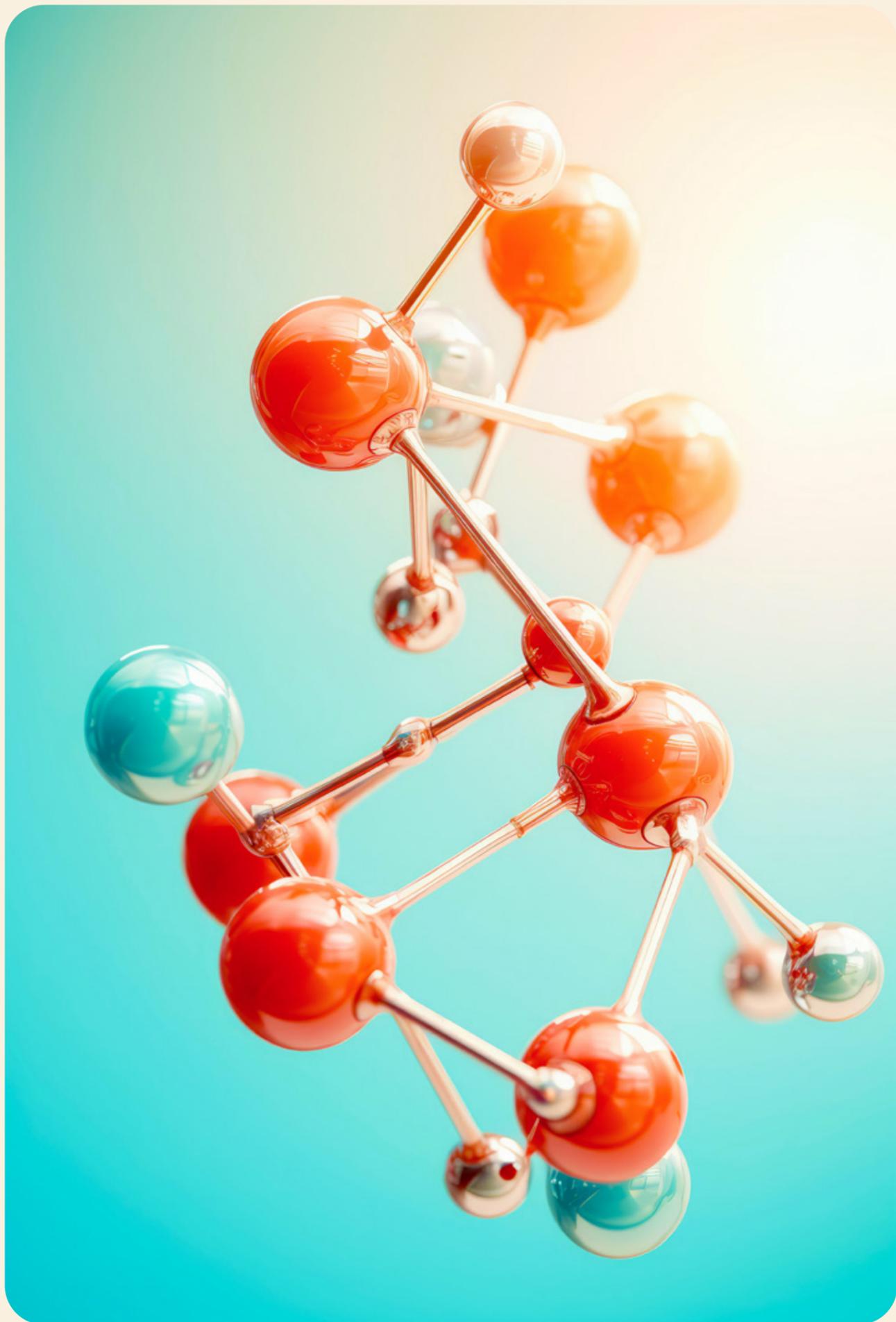
" Le fonds MSDAVENIR est une structure de financement unique dans le paysage français de par l'importance du soutien accordé sur des projets parfois très risqués, de la liberté laissée aux chercheurs pour travailler dans les meilleures conditions, et de la qualité d'accompagnement de l'équipe MSDAVENIR dans le montage et le suivi des projets. "

" L'accompagnement intelligent et l'approche collaborative sont une force majeure de ce type de financement. "

" L'ouverture vers le privé et la possibilité d'envisager des collaborations industrielles futures sont un atout important. "

++
++





**DIABÈTE-CARDIOMÉTABOLISME
VASCULAIRE / NÉPHROLOGIE**





STIMULATION DU LIGNAGE

& DE LA FONCTION ENDOCRINES INTESTINALES
DANS LES MALADIES MÉTABOLIQUES

PARIS : INSERM - Sorbonne Université
SOUTENU DEPUIS 2018

Dr Agnès RIBEIRO, UMRS1269, Unité NutriOmics,
Pr K. CLÉMENT, Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière, Paris.

CONTEXTE

Les hormones intestinales produites par les cellules entéroendocrines (CEE), tels que le GLP-1 et le GIP contribuent à l'homéostasie énergétique, au contrôle de la prise alimentaire et à la sécrétion d'insuline par un effet incrétine. Le renouvellement continu des CEE tout au long de la vie de l'individu, leur permet une adaptation permanente à l'environnement nutritionnel et/ou métabolique. Les CEE sont rares et dispersées le long de l'épithélium intestinal, ce qui rend leur étude difficile. Dans le contexte de maladies métaboliques comme le diabète de type 2 (DT2) et l'obésité, la sécrétion plasmatique d'entérohormones est altérée. Chez le sujet atteint d'obésité, le remodelage intestinal par le bypass gastrique conduit à amélioration de ces concentrations plasmatiques d'entérohormones accompagnée d'une rémission du DT2 avant même la perte de poids, en partie par des modifications de la sécrétion des entérohormones.

OBJECTIFS

Il est donc nécessaire de comprendre les défauts fonctionnels des CEE dans l'obésité et le DT2, pour proposer des nouveaux candidats pour stimuler la sécrétion endogène d'entérohormones comme le GLP-1.

RÉSULTATS

Nous avons montré chez les sujets atteints d'obésité que 1/ le DT2 diminue la différenciation des CEE GLP-1+ ainsi que la maturation du proglucagon, conduisant ainsi à une densité des cellules entéroendocrines GLP-1+ réduite et 2/ la signature transcriptomique des CEE, obtenue après tri des CEE humaines discrimine les sujets atteints d'obésité selon leur statut diabétique (Osinski, 2021).

L'analyse transcriptomique montre que le gène GNAT3 est le plus sous exprimé entre les sujets atteints d'obésité avec et sans DT2. Il code une sous-unité de la gustducine, une protéine G impliquée dans la détection du goût sucré conduisant à la sécrétion de GLP-1 en réponse aux sucres (Le Gléau, 2021).

L'hypothèse est qu'un défaut intestinal de la détection du goût sucré participerait à la diminution de sécrétion de GLP-1 dans les maladies métaboliques. Nous avons montré que Gnat3 est sous-exprimé dans les CEE de souris rendues obèses et/ou diabétiques par un régime riche en gras. Dans un modèle murin d'amélioration métabolique après chirurgie mimant le bypass gastrique chez l'Homme, nous avons montré une restauration de l'expression de Gnat3 dans l'anse alimentaire et de la sécrétion de GLP-1 en réponse au glucose (Le Gléau, 2021).

WHAT'S NEW ?

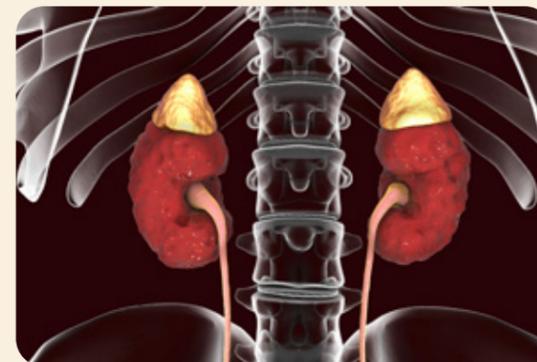
Les maladies métaboliques sont associées à une dysbiose du microbiote intestinal (diversité et fonctionnalité). Notre hypothèse est que des changements du microbiote intestinal pourraient contribuer à des modifications de la détection entéroendocrine du goût sucré notamment au travers de métabolites d'origine bactérienne, impactant ainsi la sécrétion du GLP-1.

Nous voulons déterminer si des métabolites bactériens, bénéfiques comme les acides gras à chaîne courte (AGCC), peuvent affecter la détection du goût sucré dans la cellule entéroendocrine et ainsi la sécrétion des hormones. Nous montrons *in vivo* chez la souris, lors de l'installation de l'obésité par un régime riche en gras, que la supplémentation en FOS, un prébiotique dont la fermentation par le microbiote conduit à la production d'AGCC, impacte la détection du goût sucré et en particulier l'expression de Gnat3.

Collaborateurs : P. Serradas, L. Le Gléau, C. Osinski, C. Rouault, H. Soula, L. Genser, C. Amouyal, F. Andreelli, C. Poitou, D. Moret.

Publications

- Osinski *et al.* **Type 2 Diabetes is associated with impaired jejunal enteroendocrine GLP-1 cell lineage in human obesity.** *Int J Obes*, 2021, 45(20):170-83.
- Osinski *et al.* **Intestinal alteration of α -gustducin and sweet taste signaling pathway in metabolic diseases is partly rescued after weight loss and diabetes remission.** *Am. J Physiol. Endocrinol & Metab.* 2021, 21: E417-E432.
- Osinski *et al.* **Enteroendocrine system and gut barrier in metabolic disorders.** *Int J Mol Sci.* Special Issue "Regulation and Pathophysiology of Gut Barrier", 2022, 23, 3732, Review.
- Grosfeld *et al.* **Transport et détection des glucides dans l'intestin et diabète de type 2.** *Diabète & Obésité*, 2022, 17(54), Revue.
- Steinbach *et al.* **Upper small intestine microbiome in obesity and related metabolic disorders: A new field of investigation.** *Metabolism*, 2024, Oct 24 (150)155712, Review.



CKD STOP

MALADIES RÉNALES CHRONIQUES :
DES GÈNES MODIFICATEURS AUX NOUVELLES
STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES

PARIS : Université Paris Cité
SOUTENU DEPUIS 2017

Dr Marco PONTOGLIO & Dr Fabiola TERZI

CONTEXTE

L'incidence croissante de la maladie rénale chronique (MRC) et les conséquences sévères qui y sont associées font de cette affection un enjeu majeur de santé publique. Actuellement 2 millions de personnes en sont atteintes en France, avec comme conséquences un poids socioéconomique important. La vie des insuffisants rénaux chroniques est détériorée et leur morbi-mortalité est augmentée. Une MRC peut résulter d'atteintes variées du parenchyme rénal qui aboutissent à une réduction du nombre de néphrons fonctionnels.

Une fois constituée, la réduction néphronique entraîne, indépendamment de sa cause initiale, une dégradation progressive de la structure et de la fonction des néphrons sains restants. Cependant, la vitesse de progression de la MRC varie considérablement d'un patient à l'autre. Les mécanismes à l'origine de la progression de la MRC ainsi que les facteurs génétiques et environnementaux qui prédisposent les patients à une détérioration plus rapide sont peu connus. La compréhension de la physiopathologie de la progression de la MRC est donc une condition indispensable à l'élaboration de stratégies thérapeutiques et d'outils diagnostiques efficaces.

Le projet baptisé CKDSTOP vise à développer des outils innovants (biosenseurs) afin d'identifier de nouveaux gènes et des thérapies susceptibles de moduler l'évolution des maladies rénales chroniques.

Deux laboratoires de recherche, plusieurs services de néphrologie européens ainsi qu'un centre de référence des maladies rénales travailleront en étroite interaction pour mener à bien ce projet.

OBJECTIFS & RÉSULTATS

1. Identifier les gènes modificateurs qui prédisposent au développement d'une maladie rénale.

À cet égard, nous avons adopté, en tant que paradigme, le cas de la déficience en HNF1B, la cause génétique la plus fréquente de la MRC congénitale chez l'enfant (près de 50% de la MRC). Pour identifier les gènes qui interagissent fonctionnellement avec HNF1B nous avons mis en place un criblage fonctionnel par CRISPRi avec un biosenseur qui peut mesurer la puissance de HNF1B comme « read-out ». Les lignées cellulaires qui intègrent ce biosenseur ont été établies et les résultats du criblage sont en cours d'analyse.

2. Caractériser les modifications épigénétiques qui intègrent l'effet du stress environnemental sur les réseaux moléculaires qui conduisent à la progression de la MRC.

A ce jour, nous avons mis au point toutes les conditions expérimentales nécessaires pour obtenir des cellules rénales de façon non-invasive, cet à dire à partir d'urine du patient. Nous avons pu établir que les cellules proviennent de tous les segments du néphron et qui maintiennent un certain nombre de marqueurs typiques du segment d'origine.

3. Développer une nouvelle technologie pour cribler des « bibliothèques pharmacologiques » dans la recherche de nouveaux composés susceptibles de retarder la progression de la MRC.

Dans ce but, nous rechercherons des composés chimiques capables de moduler la voie EGFR et l'activité HNF1B avec l'utilisation de biosenseurs spécifiques pour chaque voie. Nous avons choisi ces deux voies car il a été déjà établi qu'elles jouent un rôle crucial dans la progression de la MRC chez l'homme. Concernant la voie de l'EGFR, le biosenseur susceptible de prédire l'effet délétère du TGF- α , un ligand de l'EGFR, a été développé. Il s'agit d'un vecteur capable de monitorer le clivage et la translocation nucléaire de CD44, l'évènement moléculaire clé en aval du TGF- α . En parallèle, des études moléculaires menées au laboratoire ont permis d'identifier une kinase que, en aval du TGF- α , médie son effet délétère. De façon intéressante, il existe un composé chimique capable de bloquer l'activité de cette kinase. Son administration à des souris ayant subi une réduction néphronique, s'est avérée capable de prévenir le développement d'une MRC. De même, des résultats encore préliminaires indiquent que ce composé est également efficace dans la maladie d'Alport, la cause génétique la plus fréquente de maladie rénale chronique. Il s'agit d'une découverte majeure qui pourrait rapidement porter à une nouvelle thérapie de la MRC. Concernant HNF1B, là aussi, nous avons terminé le développement d'un biosenseur capable de prédire l'activité transcriptionnelle de HNF1B. Le criblage d'une banque de 1580 médicaments déjà approuvés par la « Food and Drug Administration » (FDA) et la « European Medicines Agency » (EMA) a permis d'identifier des classes de médicament qui stimulent significativement l'activité de HNF1B dans des lignées de cellules rénales. L'efficacité de ces médicaments sur les phénotypes engendrés par l'haploinsuffisance de HNF1B est en cours d'étude à la fois *in vitro*, dans des cultures de cellules issues de patients, ainsi que dans des cultures organotypiques et, *in vivo*, dans un modèle expérimental d'haploinsuffisance de Hnf1b.

En conclusion, nous anticipons que ce projet conduira au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques capables d'améliorer la prise en charge de la MRC, un enjeu majeur de santé publique.



DESCENDANCE

DIAGNOSTIC PRÉDICTIF DU DIABÈTE

📍 EVRY : CERITD
SOUTENU DEPUIS 2017

Dr Sylvia FRANC & Dr Guillaume CHARPENTIER

CONTEXTE



Validation d'une équation de risque prédictif du diabète de type 2 chez les enfants de sujets diabétiques en vue de réaliser une biopuce de diagnostic prédictif pour le dépistage précoce des sujets à risque, dans les familles concernées.

L'incidence du diabète de type 2 (DT2) est en augmentation dans le monde. La Fédération internationale du diabète estime que 463 millions d'adultes (20-79 ans) étaient atteints

de diabète dans le monde en 2019 dont 90% de DT2. Ce chiffre était de 537 millions en 2021, et devrait atteindre 700 millions d'ici 2045 (IDF Diabetes Atlas 10^e édition). En 2019, en France, près de 4 millions de personnes étaient identifiées comme atteintes de diabète par l'assurance maladie. Selon Santé publique France, la prévalence du diabète sous thérapeutique médicamenteuse était estimée à 5,3% de la population en 2020, soit 3,5 millions de personnes concernées. Le nombre de personnes atteintes de diabète progresse rapidement non seulement du fait des facteurs environnementaux mais aussi du vieillissement de la population et de l'augmentation de l'espérance de vie des sujets atteints de diabète. Face à un problème d'une telle ampleur en termes de nombre d'individus concernés et du coût que cela implique pour la société, la prévention semble la seule réponse adaptée. L'augmentation rapide de la prévalence du diabète, témoigne toutefois de la faible efficacité des recommandations médicales et des campagnes d'information générale, non ciblées.

L'objectif de l'étude principale Descendance est l'élaboration d'une équation de risque permettant de quantifier pour un sujet donné, issu d'une famille de diabétiques, son risque propre de développer dans le futur un diabète de type 2. Cette probabilité doit pouvoir être estimée à un âge jeune, lorsque le sujet est encore en parfaite santé et ne présente aucun des signes cliniques annonciateurs de la maladie c'est à dire surpoids, HTA, anomalies biologiques minimales de la glycémie ou du bilan lipidique. Le jeune âge des sujets au moment de cette prédiction va rendre inopérants les scores de risque clinico-biologiques classiques, mais permettra de mettre en place une stratégie de prévention à un stade très précoce chez sujet encore indemne, et donc avec les meilleures chances de succès durable. Cette équation de risque agrègera pour sa construction, tous les paramètres prédictifs du diabète de type 2 : des données génétiques et de caractéristiques rétrospectives familiales, environnementales, (activité, silhouette, score alimentaire...).

OBJECTIFS

Le programme Descendance prévoyait le recrutement de 300 familles sur au moins 2 générations, chacune des générations (G1 parents, G2 enfants) comprenant au moins un membre DT2 et un membre non DT2 de 25 ans minimum. Un suivi de cohorte est ensuite envisagé, avec plusieurs objectifs :

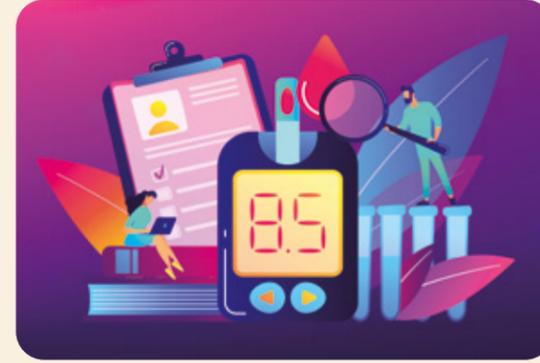
- 1) S'assurer au fil du temps, du statut des sujets de deuxième génération initialement classés « non diabétiques », et éventuellement les reclasser si nécessaire. Ceci permettra au fil du temps d'affiner la précision de l'équation de risque.
- 2) Recueil de données complémentaires comme les antécédents et traitements anti-diabétiques.
- 3) Répondre à de nouvelles questions en fonction de l'évolution des techniques et des connaissances.
- 4) Envisager la mise en place d'une stratégie de prévention chez les sujets indemnes de troisième génération, en fonction de leur score de risque préalablement défini par l'utilisation du dispositif mis au point.

RÉSULTATS

Le recrutement entre 2011 et 2020 effectué dans le cadre du programme Descendance, a permis l'inclusion de 286 familles, avec un total de 837 participants explorés (57.1 ± 13 ans, 57,1% femmes, IMC 29,4 ± 6,4 kg/m², HbA1c 6,5%, 133 fumeurs actifs). Parmi les participants, 400 sujets s'étaient déclarés indemnes de DT2. L'absence de dysglycémie a été vérifiée par un test de charge (HGPO) et une mesure d'HbA1c (critères OMS). Les données obtenues avaient toutefois permis d'identifier dans cette population, 25 sujets atteints de DT2 avéré (c'est-à-dire GAJ était ≥ 126 mg/dl ou/et HGPO sur 2h était ≥ 200 mg/dl). De plus, 70 sujets avaient une hyperglycémie modérée à jeun, 38 sujets présentaient une intolérance au glucose et l'HbA1c de 149 sujets à risque (HbA1c entre 5.7 et 6.4%).

CONCLUSION

Le diabète type 2 apparaît généralement après 40 ans, sa fréquence augmente avec l'âge. L'incidence du DT2 augmente avec l'âge, et elle est diagnostiquée à un âge moyen proche de 65 ans. L'incidence est maximale entre 75 et 79 ans. Dans la cohorte Descendance, il est apparu que les frères et sœurs considérés « sains » de nos patients DT2 et ayant également un parent DT2 présentent des anomalies glycémiques dans plus d'1/4 des cas. Cela suggère de nous investir dans un suivi à plus long terme des sujets considérés comme non DT2 et dont plus de 23% avaient un âge < 45ans à l'inclusion. Le suivi de la cohorte Descendance permettra de générer des données supplémentaires afin de rechercher de nouveaux paramètres prédictifs liés à l'évolution de la population susceptibles d'être introduits dans l'équation visant à prédire le risque de la survenue du diabète à l'âge adulte chez des enfants de parents atteints de DT2, à partir de données génétiques, épigénétiques et d'environnement familial.



Guy FAGHERAZZI

CONTEXTE

La détresse liée au diabète est définie par le fardeau que représentent le stress, les craintes ou encore les émotions liés à la gestion du diabète au quotidien. Elle touche entre 25% et 60% des patients à un moment donné de leur maladie et est donc considérée comme le facteur de santé psychosocial le plus important dans la gestion d'un diabète. Paradoxalement, elle est aujourd'hui le "parent pauvre" de la recherche en diabétologie. Il y a donc un besoin fort de mieux caractériser les différentes composantes de la détresse liée au diabète en vie réelle. Pour cela, analyser le digitosome (ie. données générées en ligne par un individu via les réseaux sociaux, ou par son smartphone ou ses objets connectés) des personnes diabétiques va profondément modifier la manière dont on peut caractériser un diabète de type 1 ou de type 2. Cette approche va permettre d'identifier de nouveaux marqueurs numériques ("digital biomarkers") de risque de complications ou de mauvaise qualité de vie, et *in fine*, et s'ils sont combinés à d'autres données cliniques ou épidémiologiques, de mieux prévenir les dégradations de santé liées au diabète.

OBJECTIFS

1. Étude de la communauté mondiale de patients diabétiques sur Twitter avec l'analyse de millions de Tweets pour identifier des profils de détresse liée au diabète en vie réelle, à l'aide de méthodes de traitement automatique du langage naturel (Natural Language Processing).
2. Développement d'un outil de prise de décision clinique qui améliore la partie synthèse de la littérature dans le processus de prise de décision tout en simplifiant l'interprétabilité. Les données textuelles sont regroupées hiérarchiquement sous forme d'arborescence et un professionnel de la santé est capable d'agir et de modifier cet arbre pendant l'exploration du cluster jusqu'à une solution définie par l'utilisateur.
3. Identification des associations causales possibles (relations "cause"- "effet") liées au diabète sur la base de données textuelles provenant des médias sociaux du monde entier.
4. Création d'une étude de cohorte numérique virtuelle grâce aux données de Twitter en simulant une méthode standardisée qui peut imiter la conception d'une étude de cohorte réelle.

WDDS

(WORLD DIABETES DISTRESS STUDY)

ÉTUDE MONDIALE DE LA DÉTRESSE LIÉE AU DIABÈTE
À L'AIDE DE MÉTHODES D'INTELLIGENCE ARTIFICIELLE

📍 PARIS : INSERM
SOUTENU DEPUIS 2018



PERSPECTIVES

Cette étude va permettre pour la première fois de caractériser, partout dans le monde, des profils de détresse liée au diabète et de mieux comprendre les relations entre ces facteurs psychologiques et l'état de santé des personnes diabétiques. Ce projet va également permettre de développer une méthodologie d'analyse innovante, s'appuyant sur des méthodes d'Intelligence Artificielle combinées à des approches cliniques et épidémiologiques traditionnelles, afin de contribuer à développer une recherche en vie réelle moderne en diabétologie. Une extension à d'autres pathologies est actuellement en préparation, avec l'objectif de développer un observatoire mondial de la santé en ligne.

Publications

1. **Extraction of Explicit and Implicit Cause-Effect Relationships in Patient-Reported Diabetes-Related Tweets From 2017 to 2021: Deep Learning Approach.** Ahne A, ... and Fagherazzi G. JMIR Med Inform. 2022 Jul 19;10(7):e37201. doi: 10.2196/37201.
2. **Improving Diabetes-Related Biomedical Literature Exploration in the Clinical Decision-making Process via Interactive Classification and Topic Discovery: Methodology Development Study.** Adrian Ahne, et al. JMIR (2022) doi: 10.2196/27434.
3. **Emulating a virtual digital cohort study based on social media data as a complementary approach to traditional epidemiology: When, what for, and how?** Guy Fagherazzi, Charline Bour, Adrian Ahne. Diabetes Epidemiology and Management 7 (2022) 100085.
4. **Global Diabetes Burden: Analysis of Regional Differences to Improve Diabetes Care.** (PREPRINT). Charline Bour, et al. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4128868> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4128868>
5. **Insulin pricing and other major diabetes-related concerns in the USA: a study of 46 407 tweets between 2017 and 2019.** Ahne A, Orchard F, ... and Fagherazzi G. BMJ Open Diabetes Research and Care 2020;8:e001190. doi: 10.1136/bmjdr-2020-001190.
6. **Étude mondiale de la détresse liée au diabète : le potentiel du réseau social Twitter pour la recherche médicale.** G. Fagherazzi, A. Ahne, ... F. Orchard. Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique, Vol 66 - N° S4, P. S197-S198 - juin 2018. doi : 10.1016/j.respe.2018.04.002.
7. **Scoping review protocol on the use of social media for health research purposes.** Charline Bour, Susanne Schmitz, Adrian Ahne, Camille Perchoux, Coralie Dessenne, Guy Fagherazzi. BMJ Open 2021;11:e040671. doi:10.1136/bmjopen-2020-040671.
8. **The use of social media for health research purposes: Scoping Review.** Charline Bour, Adrian Ahne, Susanne Schmitz, Camille Perchoux, Coralie Dessenne, Guy Fagherazzi. JMIR Vol 23, N° 5 (2021) (<https://www.jmir.org/2021/5/e25736>).

Autres

Codes et algorithmes développés dans le cadre du projet WDDS en Open Source : <https://github.com/WDDS>



SURVI

STRUCTURE D'URGENCES VASCULAIRES INTESTINALES

PARIS : APHP
SOUTENU DEPUIS 2016

Pr Olivier CORCOS, Responsable de SURVI. Equipe : Laboratory for Vascular Translational Science (INSERM 1148) (Dr Nuzzo Alexandre, Dr Kevin Guedj (sc), Pr Antonino Nicoletti), APHP (Dr Katell Peoc'h, Dr Audrey Huguet, Dr Nathalie Gault)

CONTEXTE

SURVI® est la première structure hospitalière en France et dans le monde, dédiée à la prise en charge des accidents vasculaires intestinaux, dont l'Ischémie Mésentérique Aigue (IMA), une urgence médico-chirurgicale vasculaire et digestive. Porté par l'APHP et répondant à une mission de santé publique, SURVI® est un programme unique de soins et de recherche lancé en 2016, qui a été élaboré pour répondre à une problématique non résolue (unmet need) de la Médecine et de la Chirurgie. Reposant sur une stratégie ciblant la viabilité intestinale, qui a permis d'inverser le pronostic de l'IMA avec une survie des patients > 80%, SURVI® opère un changement de paradigme dans la prise en charge des maladies vasculaires intestinales.

OBJECTIFS

Articulé autour d'un projet de soins et d'un vaste programme de recherche et d'enseignement, SURVI® vise à exporter son modèle et créer un standard de soin, à développer de nouveaux outils diagnostiques et thérapeutiques, ainsi que diffuser les connaissances acquises par une recherche observationnelle sur une large cohorte.

RÉSULTATS

L'année 2023 fut une année charnière qui a permis la poursuite de projets de recherche déjà engagés, d'évaluer de nouvelles perspectives et de développer de nouveaux outils de communications et de formation. **Etudes Cliniques :** Avec à ce jour plus de 1 000 patients inclus (octobre 2023), SURVIBASE, première cohorte phénotypée de patients dans l'ischémie et les maladies vasculaires intestinales, constitue l'un des piliers du programme de recherche SURVI®. Elle représente la plus grande base de données à l'échelle internationale. Ainsi, SURVIBASE sert de support pour des études cliniques promues. Plus d'une dizaine de nouvelles études cliniques SURVI® sont en préparation ou en cours de développement sur la période 2022-2024. A titre d'exemples, une publication majeure est en préparation rapportant prospectivement les résultats de la prise en charge SURVI sur plus de 400 IMA inclus prospectivement dans la SURVIBASE ; d'autres larges études

observationnelles dans l'IMA préciseront les facteurs pronostiques chez le sujet > 80 ans, les patients avec ischémie mésentérique veineuse ou les patients admis en soins critiques (projet SURVIREA). En 2024 va également démarrer le 1^{er} essai randomisé contrôlé multicentrique jamais réalisé dans l'IMA.

Biobanque : Dans la continuité du projet de recherche SURVIBIO, qui a pour objectif d'identifier des biomarqueurs diagnostics d'IMA, il a été décidé pour la période 2023-2024 d'approfondir les résultats déjà obtenus sur les biomarqueurs préalablement identifiés en métabolomique par GC-MS /1H-NMR et en protéomique par spectrométrie de masse, et de procéder à des analyses quantitatives permettant une meilleure appréciation de l'intérêt de ces biomarqueurs dans le diagnostic des IMA. De même, une analyse en protéomique sur un échantillon plus important que celui de la précédente étude (200 patients) est envisagée pour permettre et d'identifier d'éventuels nouveaux biomarqueurs complémentaires à ceux précédemment identifiés et d'évaluer leur pertinence diagnostic.

Export du modèle par la création du réseau SURVI® : L'une des finalités du programme SURVI® dans sa mission de santé publique est de s'étendre à d'autres régions en France et d'accompagner le déploiement de nouvelles structures de prise en charge des urgences vasculaires intestinales à travers un réseau national en cours de structuration. L'année 2023 a été marquée par les différentes rencontres et échanges sur le plan national avec des équipes désireuses de rejoindre le réseau SURVI® et de mettre en place une structure dédiée. Ainsi s'est tenu le 11 octobre 2023, le premier Webinar national SURVI®, ouvrant la perspective de prochaines collaborations sur plusieurs régions en France.

Création d'une plateforme de communication et d'échanges SURVI® : Destinée à différents publics, cette plateforme a pour objectifs, de permettre des échanges et une communication entre les membres du réseau SURVI®, de constituer un espace d'information et de formation pour les professionnels de santé et d'informer les patients et le grand public sur l'IMA et sur les modalités de prise en charge. Cette plateforme sera mise en ligne fin 2023.

Publications

- Garzelli L, et al. **Reperfusion injury on computed tomography following endovascular revascularization of acute mesenteric ischemia-prevalence, risk factors, and patient outcome.** 2022. Insights into Imaging.
- Sénémaud JN, et al. **Retrograde Open Mesenteric Stenting for Acute and Chronic Mesenteric Ischaemia- Results from an Intestinal Stroke Centre.** 2021. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery.



iTRANSPLANT

INTELLIGENCE ARTIFICIELLE POUR UNE MÉDECINE DE PRÉCISION

PARIS : Fondation de l'APHP
SOUTENU DEPUIS 2018



Pr Carmen LEFAUCHEUR

CONTEXTE

Définition des trajectoires d'évolution pour identifier des profils de risque de patients transplantés

L'avantage de l'approche basée sur des trajectoires comparées aux analyses traditionnelles est sa capacité à cartographier l'évolution fonctionnelle des greffons et à classer les patients dans des groupes distincts, mutuellement exclusifs. Ainsi nous faisons l'hypothèse qu'identifier les profils d'évolution des maladies chroniques sans à priori, et investiguer si ces profils se manifestaient de manière similaire à travers de nombreux cohortes et pays, pourrait apporter une compréhension profonde sur l'universalité potentielle de différentes pathologies, comme le rejet, ses déterminants, et ses associations avec des événements de santé. Nous avons finalisé deux études (en transplantation rénale et cardiaque) et nous avons démarré le travail en transplantation pulmonaire.

- Étude des trajectoires en transplantation cardiaque : identification et caractérisation des trajectoires de coronaropathie des greffons cardiaques afin d'apporter des éléments permettant de mieux stratifier son risque, grâce à l'identification de ses facteurs prédictifs, pour améliorer sa prévention. Ce projet a nécessité la collaboration de 4 centres : HEGP, Hôpital La Pitié Salpêtrière, Leuven (Belgique) et Sinai Medical Center Los Angeles sur 609 patients transplantés entre 2004 et 2015 (Loupy *et al.*, 2020).
- Étude internationale des trajectoires de fonction en transplantation rénale comprenant 14 132 receveurs de greffes rénales parmi lesquels 2 509 provenaient de sept essais contrôlés randomisés et 11 623 de centres européens et américains. Nous avons identifié pour la première fois huit trajectoires distinctes d'évolution de la fonction rénale à long terme et avons conclu que ces trajectoires étaient différentes selon plusieurs aspects liés au donneur, au receveur, aux paramètres cliniques, immunologiques et histologiques qui peuvent être déterminés précocement après la greffe. De manière particulièrement notable, nous avons démontré que les huit trajectoires et leurs déterminants étaient très similaires dans 15 cohortes distinctes en Europe et aux États-Unis (Reynaud *et al.*, 2020).

- Implications cliniques des études de trajectoires : développement d'une application en ligne qui renforce le potentiel d'une évaluation du patient basée sur des trajectoires à un temps précoce après la greffe pour prédire l'évolution du DFGe au long cours et la progression vers l'IRT dans les essais cliniques. En conséquence, dans le but de rendre possible un suivi du patient basé sur les trajectoires, nous avons développé une application en ligne permettant aux cliniciens de prédire le futur probable et personnalisé de la fonction rénale d'un patient donné, ainsi que le risque associé d'échec de greffe.

OBJECTIFS & RÉSULTATS

Evaluation des biomarqueurs non invasifs (dd-cfDNA) pour le dépistage des rejets de greffons rénaux et création d'un score probabilistique intégratif du rejet

Le diagnostic du rejet en transplantation rénale repose actuellement sur l'étude histologique de la biopsie du greffon, un acte diagnostique invasif et coûteux. Le développement de nouveaux biomarqueurs non invasifs tels que la fraction d'ADN libre circulant du donneur (dd-cfDNA) a ainsi émergé. L'objectif de notre étude est de développer un score intégratif comprenant l'ensemble des variables usuelles pour le dépistage du rejet de greffon et d'étudier la valeur additionnelle du dd-cfDNA. Notre étude inclue 1028 biopsies phénotypées en accord avec la classification internationale pour le rejet de Banff 2019. La fraction de dd-cfDNA plasmatique en continue est significativement indépendamment associée au rejet en analyse multivariée ($p < 0.0001$). Son intégration au sein d'un modèle de régression incluant le dd-cfDNA et des variables biologiques et immunologiques augmentent la discrimination du même modèle sans dd-cfDNA (AUC = 0.83 vs 0.81 $p = 0.024$) avec une bonne calibration démontrant sa valeur additionnelle par rapport aux variables usuelles.

Publications

- Raynaud M., Aubert O., et al., **Lancet Digit Health** 2021. Published online October 27, 2021.
- Raynaud M., et al., **Kidney International** 2021. 99:186-97
- Loupy A., et al., **J. Circulation** 2020. 141(24):1954-67.



INDUCTION DES CELLULES β

RESTAURATION D'UNE MASSE DE CELLULES β FONCTIONNELLE AU COURS DU DIABÈTE

PARIS - NICE : ARDRM
SOUTENU DEPUIS 2018

Christian BOITARD (Paris) & Patrick COLLOMBAT (Nice)

CONTEXTE

The pancreas plays a crucial role in nutritional homeostasis through the synthesis and secretion of hormones and enzymes. This organ includes three main tissue types: endocrine, acinar, and ductal cells. The exocrine pancreas is composed of acinar cells and a highly branched ductal epithelium, whereas endocrine cells are aggregated into islets of Langerhans. The latter correspond to specialized micro-organs consisting of four different cell subtypes, α -, β -, δ -, and PP cells, which produce the hormones glucagon, insulin, somatostatin, and PP (Pancreatic Polypeptide), respectively. Insulin and glucagon function coordinately to control glucose homeostasis, whereas somatostatin and PP regulate the secretion of other hormones and exocrine enzymes.

Diabetes is characterized by high blood glucose levels, which, in most cases, result from the inability of the pancreas to secrete sufficient amounts of insulin. While the autoimmune-mediated destruction of insulin-producing β -cells causes type 1 diabetes (T1D), type 2 diabetes (T2D) results from β -cell failure and eventual loss over time. Current treatments of diabetes fail to strictly restore normoglycemia and, in the case of T1D, even appear as rather palliative, replacing defective insulin secretion by exogenous insulin injections. Therefore, replenishing the pancreas with new functioning β -cells and/or maintaining the health of the remaining β -cells represent critical strategies for the treatment of both conditions. However, strategies aiming to restore new functional β -cells need to consider the underlying mechanisms of β -cell destruction or dysfunction and prevent diabetes recurrence. For T1D, any expansion of β -cells could trigger the autoimmune response responsible for their initial destruction and lead to the eventual loss of newly formed β -cells.

In this context, using the mouse as a model system, it was recently demonstrated that β -cell neogenesis can be forced using α -cells as a source. For instance, through the administration of GABA, it was shown that α -cells could be both regenerated and converted into β -like cells, such cells being able to reverse the consequences of chemically induced diabetes.

RÉSULTATS

Building upon the previous results, we developed a bi-partite approach aiming at:

- Inducing α -cell-mediated β -like cell neogenesis using FDA-approved compound. Four hundred fifty compounds were thus screened for their ability to induce α -cell-mediated β -like cell conversion in a large number of conditions: five were found to be of high interest and are currently being validated *in vivo* with the eventual goals of testing them on human tissues and of gaining further insight into the molecular mechanisms involved.
- Assessing whether GABA can successfully counter autoimmune-mediated β -cell loss (as seen in T1D). Using animal models displaying an autoimmune-mediated attack of β -cells, we demonstrate that GABA significantly decreases diabetes incidence in two different genetic backgrounds, the NOD, and the YES mice. No differences were observed in the immune-cell phenotype in the periphery and pancreatic lymph node.

These experiments open the possibility that a treatment inducing the neofunction of β -cells may prevent the development of type 1 diabetes; whether it generates, a form of immune tolerance should be addressed.



ICONIC

1^{ère} BIOBANQUE D'IMAGERIE CARDIAQUE ET HÉPATIQUE EN POPULATION GÉNÉRALE EN FRANCE

PARIS : Fondation pour l'Innovation en Cardiométabolisme et Nutrition (IHU ICAN)
SOUTENU DEPUIS 2023

Pr Alban REDHEUIL & Pr Marie ZINS

CONTEXTE

Une première mondiale

Le projet ICONIC vise à constituer une large base de données d'imagerie biomédicale adossée à la cohorte épidémiologique nationale CONSTANCES (Inserm) pour mieux prévenir et soigner les maladies cardiométaboliques et anticiper les pathologies dégénératives. Cette étude inédite d'imagerie de population bénéficie des techniques les plus avancées et les plus récentes. Une des particularités de ce projet tient à la fois dans l'utilisation exclusive de plusieurs modalités d'imagerie non invasive en résonance magnétique (IRM) et échographie (ultrasons) et dans l'exploration conjointe du système cardiovasculaire, hépatique et métabolique. Les données multiparamétriques résultantes permettront d'établir de nouveaux biomarqueurs d'imagerie dans la population française en fonction du sexe, de l'âge et du profil de risque individuel basé sur les données existantes dans la cohorte CONSTANCES. CONSTANCES est une cohorte de 220 000 volontaires en France qui permet de réaliser des projets de recherche en santé, d'étudier les maladies, les profils de santé incluant la fonction respiratoire et cognitive, la génomique et de très nombreux facteurs environnementaux, économiques et professionnels.

OBJECTIFS

L'étude pilote comprend l'inclusion de 2 400 participants sur 5 ans en monocentrique. L'étude finale concernera 25 000 participants sur tout le territoire français.

Objectif principal prioritaire

Mise en œuvre d'un atlas de référence français d'imagerie biomédicale avancée de population pour contribuer à la recherche épidémiologique menée dans la cohorte CONSTANCES et permettre la validation de nouveaux biomarqueurs d'imagerie non invasifs. Ainsi, des profils d'âge cardiovasculaire et hépatique distincts seront établis grâce à l'imagerie de pointe proposée pour l'ensemble de l'échantillon de population grâce à l'analyse d'un sous-groupe de sujets sans facteurs de risque cardiométaboliques.

Principaux objectifs secondaires

- Elaboration de nomogrammes de biomarqueurs d'imagerie multimodalité avancée dans 3 organes principaux : cœur, aorte et foie.
- Etude de la répartition des biomarqueurs d'imagerie multimodale d'organe dans la population française en fonction des facteurs de risque cardiométabolique.
- Relation des biomarqueurs d'imagerie cardiovasculaire et hépatique avec d'autres paramètres de la cohorte Constances (notamment épidémiologiques).
- Interactions fonctionnelles et structurelles entre le cœur, les artères, le foie et le tissu adipeux.
- Génération d'une base de données d'imagerie avec des annotations de référence liées.

- Génération de données pour définir des groupes de contrôle et des valeurs de référence utiles pour des études cliniques.
- Analyses multiomiques, y compris la radiomique pour les approches de type « empreinte digitale » : étudier la relation entre les biomarqueurs dérivés du sang (élaboration d'une biobanque incluant lipidomique et métabolomique) et les biomarqueurs d'imagerie pour déterminer des profils de vieillissement et de santé multiparamétriques.

RÉSULTATS

La venue des premiers volontaires sur le site est prévue en avril 2024. Un projet d'une telle ampleur demande des aménagements sur plusieurs aspects :

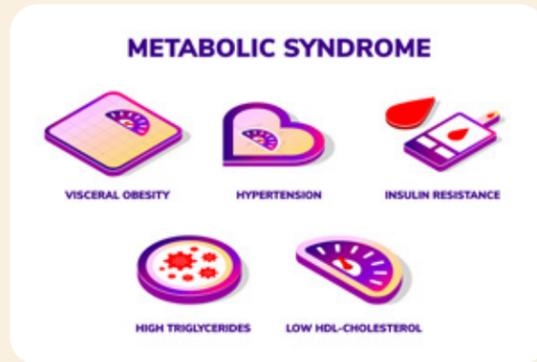
- Organisation des locaux : dans un premier temps l'étude pilote se fait en monocentrique sur le site de l'hôpital de la Pitié Salpêtrière. Les 2400 participants seront reçus 3 par 3, tous les jours pendant 5 ans mobilisant 6h de la plateforme d'imagerie recherche ICAN Imaging.
- Organisation du personnel : les recrutements spécifiques sont en cours. Il s'agit de personnel médical, paramédical avec un objectif de démedicaliser les examens au maximum (acquisition d'images par des infirmières de pratique avancées), personnel spécialisé en relecture et segmentation d'imagerie multimodale (IRM et échographie) de plusieurs organes (cœur, aorte et vaisseaux, foie, y compris le tissu adipeux).
- Organisation des équipements d'imagerie avancée : travail de collaboration avec les différents constructeurs (IRM cœur, IRM foie, échographie cœur de repos et d'effort, échographie foie). Les examens se feront avec un matériel de pointe et seront analysés avec des logiciels de référence a) commerciaux pour assurer l'interopérabilité avec autres grands projets d'imagerie de population internationaux et la transférabilité des résultats en routine et b) académiques pour permettre l'extraction de biomarqueurs innovants.
- Dimensionnement de l'infrastructure informatique et de base de données structurées : assurer la sécurité et pérennité des données mais également permettre les interactions internes et externes avec les méta-données générées.

Le protocole de l'étude est rédigé et en cours de révision éthique (déc. 2023).

Publications

1. Hammoudi N, *et al.* Altered cardiac reserve is a determinant of exercise intolerance in sickle cell anaemia patients. Eur J Clin Invest. janv 2022;52(1):e13664.
2. Jani VP, *et al.* Deep Learning-based Automated Aortic Area and Distensibility Assessment: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). J Digit Imaging. juin 2022 ; 35(3):594-604.
3. Deraz O, *et al.* Sexual Minority Status Disparities in Life's Simple 7 and Life's Essential 8 Cardiovascular Health scores, A French Nationwide Population-Based Study. J Am Heart Assoc. 2023 Jun 6 ; 12(11):e028429. doi: 10.1161/JAHA.122.028429. Epub 2023 May 17.
4. Van Sloten TT, *et al.* Association of Cardiovascular Health With Risk of Clinically Relevant Depressive Symptoms. JAMA Psychiatry. 2023 Apr 1 ; 80(4):342-349. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2022.5056.PMID: 36790776.





ENDOMETABO

CENTRAL PTH / PTHRP SIGNALLING: NEW LEVERAGE AXIS FOR THE TREATMENT OF ANOREXIA / METABOLIC SYNDROME

PARIS : Université Paris Cité - Institut Necker - Enfants Malades
SOUTENU DEPUIS 2022

Dr Serge LUQUET, Dr Franck OURY & Dr Pierre TUFFERY

CONTEXTE

Obesity and correlated diseases such as hypertension, atherosclerosis, dyslipidemia, coronary diseases and diabetes mellitus are identified as a worldwide pandemic (Molavi *et al.*, 2006). Obesity per se, as well as the constellation of associated pathophysiology defined as the metabolic syndrome is inflicting an escalating public health burden. Whereas some genetic loci have been clearly identified and extensively studied as monogenic cause for obesity, it is widely accepted that the metabolic syndrome is in essence a multifactorial disease that encloses a complex network of molecular, cellular and physiological alterations (Kahn and Flier, 2000). The urge to understand the fundamental determinant of obesity and obesity-related disease has therefore generated a frantic race in the scientific community to unravel the mechanism involved and build potential therapeutic strategies. However, approved drugs for obesity have limited efficacy and act only acutely, with patients rapidly regaining weight after terminating treatment (Yanovski and Yanovski, 2002).

Substantial evidence indicates that the brain plays a key role in controlling energy homeostasis. Specialized neuronal networks in the hypothalamus (HpT) are known as the main orchestrators of the central control of energy balance, by integrating the effects of key metabolic hormones and nutrients. Within the HpT, the arcuate nucleus (ARC) is of particular interest, because it is located close to the median eminence, a circumventricular organ that has evolved to facilitate the access of blood-borne metabolic signals onto first order ARC neurons. In the ARC, two sub population were demonstrated to contain two opposite branches of the melanocortin signaling pathway, the neuron producing the anorectic/catabolic POMC and the neurons producing the antagonist of the MCR, Agouti related protein. AgRP and POMC neurons represent a primary substrate for the integration of circulating signals if hunger and satiety and a key neurocircuits in the control of various aspect of energy balance such as food intake, energy expenditure and peripheral substrate utilization (Elmquist *et al.*, 1999 ; Schwartz *et al.*, 2000 ; Spiegelman and Flier, 2001 ; Barsh and Schwartz, 2002 ; Dietrich & Horvath, 2013 ; Timper & Brüning, 2017). Although the role of these neurons is pivotal in the control of whole-body metabolism, understanding of this complex regulation remains largely incomplete.

Recently, we unveiled the presence of a novel G-protein coupled receptor linked to adenylyl cyclase in the AgRP neurons, the parathyroid hormone type 1 receptor (PTH1r), which is considered as the major regulator of Ca²⁺ homeostasis in the body, but with unknown role in the brain. Importantly, PTH1R can bind to either the endocrine parathyroid hormone (PTH) (exclusively produced by the parathyroid glands) and the paracrine

parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) expressed in various tissues including brain (Weaver *et al.*, 2015). Moreover, it has been demonstrated that alterations in either circulating PTH or PTHrP levels are correlated with the severity of obesity (Reis *et al.*, 2007 ; Saab *et al.*, 2010 ; Corbetta *et al.*, 2018), a metabolic disorder linked to deficits in brain networks controlling energy metabolism, namely the hypothalamus (HpT) (Timper & Brüning, 2017). Taken together, these observations raise the question of whether PTH and/or PTHrP could play an important role in the central control of energy metabolism and may represent novel therapeutic targets to prevent/treat obesity and metabolic disorders.

Using genetic, physiological, metabolic and cellular/molecular approaches, we have demonstrated that circulating PTH or paracrine PTHrP acting onto PTH1R exert distinct intracellular events in AgRP neuron to independently promote change in feeding behavior, fasting-induced adaptive responses, peripheral substrate utilization and body weight gain. These findings provide novel insights in the complex underpinnings by which circulating and paracrine signals can modulate different facets of energy balance by virtue of subtle modulation and engagement of AgRP+ neurons function. More importantly, we provide the proof-of-principle that a modulation of PTH1R system in the brain is sufficient to significantly reduced body mass gain, fat mass increase and steatosis in liver in standard mouse model of obesity, paving the way for the development of promising therapeutics for metabolic disorders, such as obesity and metabolic syndrome (Siopi *et al.*, Cell Metabolism (in revision)).

These results provide further insight into the complex communication between brain and systemic circulating factors underpinning the central control of energy metabolism, which resonates with clinical observation showing that circulating PTHrP and PTH levels correlate with the severity of obesity (Reis *et al.*, 2007 ; Saab *et al.*, 2010; Corbetta *et al.*, 2018). The PTH1R system in the brain offers an ideal setting for the development of a peptide-based strategy (brain penetrant small interfering peptide) targeting PTH1R signalling pathway in AgRP neuron and test their therapeutic potential to treat either cancer-induced anorexia and lipolysis, metabolic defect associated with obesity i.e hyperphagia, dyslipidaemia, diabetes and body weight gain.

OBJECTIFS

Our preliminary results point to the PTH/PTHrP signalling onto AgRP neuron as a fundamental regulator of energy homeostasis acting positively onto body weight gain in the condition of obesity, and negatively in the condition of cancer associated cachexia. In addition, we predict that generating small-peptide- based strategies to modulate PTH1R signalling onto AgRP neuron will allow to directly control feeding behaviours, and glucose metabolism through the control of peripheral organ activity. Therefore, we

proposed to address 3 main objectives to identify new therapeutic targets that could directly or indirectly modulate the regulation of feeding behaviour and energy expenditure by PTH/PTHrP:

1. Identify upstream and downstream cellular and molecular component that modulate PTH/PTHrP signalling in AgRP neurons.
2. Establish the proof of concept that PTH1r signalling pathways in AgRP-neurons is a critical regulator of cancer-induced anorexia and lipolysis, and obesity-induced defect in nutrient partitioning, diabetes and dyslipidaemia.
3. In silico design and in vivo validation of a peptide-based strategy to control PTH1R signalling pathway in AgRP neuron and energy homeostasis through brain penetrant small peptide design.

RÉSULTATS

WPI: Following the identification of the role of PTH/PTHrP signalling onto AgRP neuron for the control of in feeding behavior, fasting-induced adaptive responses, peripheral substrate utilization and body weight gain, it is essential to identify the upstream and downstream mechanisms that modulate PTH/PTHrP signalling in AgRP neurons. This question is also essential for the development of efficient therapeutic tools based on PTH1R system to prevent/treat obesity and associated-metabolic disorders:

1 - A key question was to determine how a same receptor (i.e PTH1R) could regulate different HpT metabolic functions dependently of its activation by either PTH or PTHrP. Using both in vitro and in vivo experiments, we now demonstrate that PTHrP and PTH can stimulate different signaling cascades of PTH1R in AgRP neurons: PTHrP activates the phospholipase C β /inositol trisphosphate (IP₃)/Ca²⁺/protein kinase C (PKC) pathway, while PTH activates the adenylyl cyclase/cAMP/protein kinase A (PKA) pathway. These results clearly indicate that both ligands can modulate AgRP neurons via a same G-coupled receptor but activating different signaling pathways. In light of these results, we have now generated new genetics tools to assess the dynamic and mechanisms of interactions of each ligand with PTH1R in AgRP neurons.

2 - Investigating the cellular mechanism of action of the PTH1r system in AgRP neurons, we first found that PTH1R activation by PTHrP induces a massive reduction in the amount of lipid droplets in HpT neurons through the activation of a selective form of autophagy: lipophagy. This induction leads to an increase intra-neuronal free fatty acids (FFAs) availability, which is necessary to upregulate AgRP levels and thereby modulate food intake. Hence, suggesting that PTHrP could constitute a homeostatic mechanism allowing for a controlled availability of an endogenous pool of FFAs during starvation as an adaptive response to a constantly fluctuating environment. We are now investigating the cellular mode of action of PTH.

3 - Studying the upstream regulator of the hormonal feedback and specific circulating metabolic cues triggering this paracrine system in AgRP neurons, we found that one likely hormonal driver of hypothalamic PTHrP and PTH1R expression is ghrelin. Ghrelin is the only known circulating hormone that acts directly on AgRP neurons to induce rapid transcription of orexigenic neuropeptides (Nakazato *et al.*, 2001). In vivo, selective knockdown of PTH1r in AgRP impaired feeding response achieved by systemic ghrelin injection, further confirming the convergence of ghrelin and PTH1R signaling onto AgRP neuron. This observation suggests that the PTH1R system may act as a key modulator of the effects of key systemic metabolic cues in AgRP neurons for the regulation of energy metabolism by the brain.

WP2: Our original results have showing promising effects of a preventive strategy targeting the PTHrP/PTH1r in AgRP neurons. We have now examined the curative efficacy of PTHrP/PTH1r modulation in obese mouse model (high Fat Diet).

1 - We now provide the demonstration that local downregulation of either Pth1r or PTHrP in AgRP neurons in obesity-induced mouse model is sufficient to significantly reverse the BW and fat mass (NMR) alterations, blood glucose and insulin dysregulation, fat accumulation in liver. The same strategy will be now used to test the efficacy of the different.

WP3: In silico analysis of the PTH1R receptor and ligand binding structures has already allowed to identify candidate peptide that could act as agonist, antagonist or bias agonist with the potency to selectively activate either of the downstream pathway of PTH1R i.e PKA or PKC. Cell culture assays are now established to validate in vivo interaction of these ligand with the PTH1R. Fluorescent peptides allowing to follow intracellular trafficking of the PTH1R/agonist complex have been synthesized. Following the results of cell assays, candidate peptides will be modified so to add a blood-brain-barrier carrier peptide allowing for in vivo targeting of brain tissue.

Publications

1. Siopi E., Galerne M., Rivagorda M., Saha S., Moigneu C., Moriceau S., Bigot M., Oury F*, Lledo P-M*. **Gut microbiota changes require vagus nerve integrity to promote depressive-like behaviors in mice.** Mol Psychiatry. (2023) doi: 10.1038/s41380-023-02071-6. Online ahead of print.
2. M Ramos-Brossier, D Romeo-Guitart, F Lanté, V Boitez, F Mailliet, S Saha, M Rivagorda, E Siopi, I Nemazanyy, C Leroy, S Moriceau, S Beck-Cormier, P Codogno, A Buisson, L Beck, G Friedlander, F Oury*. **Slc20a1 and Slc20a2 Regulate Neuronal Plasticity and Cognition independently of their phosphate transport ability.** Cell Death & Disease (2023) in press.
3. E Siopi*, M Galerne*, A Rousseau*, F Liénard, F Mailliet, V Boitez, E Nedelec, S Moriceau, M Rivagorda, M Faour, J Castel, S Saha, C Schreweiss, I Nemazanyy, D Romeo-Guitart, N Dupont, C Confavreux, S Luquet, A Benani, F Oury. **Parathyroid Hormone Receptor Signaling in Hypothalamic AgRP Neurons is a Determinant of Feeding Behavior.** Cell Metabolism (in revision).



PPI-Fc

PRÉVENTION DU DIABÈTE DE TYPE 1 ET TRAITEMENT DE L'ALLERGIE À L'INSULINE PAR VACCINATION INTRANASALE AVEC UNE PROTÉINE DE FUSION PRÉPROINSULINE-FC

PARIS : INSERM - Univ. Paris Cité - Inst. Cochin - CNRS - APHP
SOUTENU DEPUIS 2022

Roberto MALLONE, Sylvaine YOU & Claire DELIGNE

CONTEXTE

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune résultant de la destruction des cellules β pancréatiques productrices d'insuline par des lymphocytes T auto-réactifs. Son incidence augmente constamment dans les pays industrialisés. Le seul traitement disponible à ce jour, essentiellement palliatif, consiste en des injections d'insuline exogène, impactant la qualité de vie des patients et n'empêchant pas les complications vasculaires à long terme. De nombreuses immunothérapies ont été testées, avec des succès mitigés, principalement dus à une intervention tardive chez des patients déjà diabétiques ou présentant une auto-immunité très engagée, s'accompagnant d'un déclin du nombre et de la fonction des cellules β . Ces données cliniques renforcent la nécessité de développer des approches de prévention précoce du DT1 chez les patients à risque (apparentés de personnes malades, porteurs des gènes HLA de prédisposition). Les thérapies envisagées, visant de jeunes enfants, doivent montrer une grande spécificité d'action et être non invasives pour être attractives pour une application clinique.

Nous avons développé et breveté une protéine de fusion constituée de la préproinsuline (antigène clé du DT1) reliée au fragment Fc d'une immunoglobuline humaine (PPI-Fc), ce qui lui confère la capacité de passer à travers les muqueuses par sa fixation au récepteur Fc néonatal (FcRn) exprimé par les cellules épithéliales (WO/2017/012959). Afin de pallier à la dégradation importante de la PPI-Fc observée après administration orale, tout en bénéficiant des mécanismes de tolérance associés aux muqueuses, nous nous sommes tournés vers la voie intranasale, qui suscite un intérêt grandissant en clinique. Ainsi, nous proposons ici d'évaluer les capacités thérapeutiques préventives de la PPI-Fc intranasale dans un modèle murin de DT1. Toutefois, le transfert à la clinique de protocoles de prévention précoce du DT1, ciblant donc des enfants très jeunes avant même l'apparition de signes biologiques ou cliniques de la maladie, est une entreprise risquée car longue, coûteuse et soumise à des exigences réglementaires complexes. Par conséquent, nous avons adopté une stratégie parallèle qui vise à évaluer les capacités thérapeutiques de la PPI-Fc dans une autre indication, l'allergie à l'insuline, une complication rare mais sévère touchant 0.1 à 3% des patients insulino-traités. Les manifestations cliniques incluent des réactions cutanées (éruption, urticaire) et des effets systémiques (angio-œdème/anaphylaxie mettant en jeu le pronostic vital). A ce jour, aucun traitement de référence n'existe. Ainsi, en plus de fournir un traitement ciblé pour cette rare pathologie, la PPI-Fc intranasale pourrait être ensuite réorientée pour des essais de prévention du DT1 (repurposing).

OBJECTIFS

L'objectif de ce projet, qui utilise la souris Non Obese Diabetic (NOD), modèle expérimental de DT1 spontané, est double :

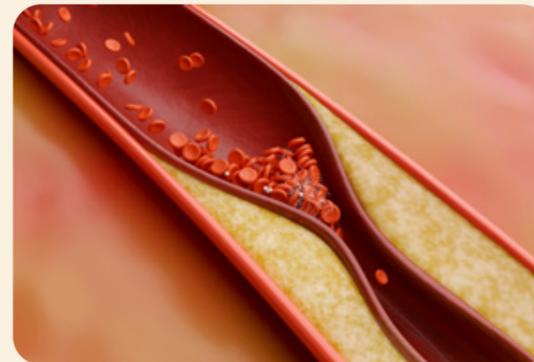
- Traitement de l'allergie à l'insuline.** Nous analyserons l'efficacité et les mécanismes thérapeutiques de la PPI-Fc intranasale pour le traitement de l'allergie à l'insuline.
- Prévention du DT1.** Nous évaluerons la capacité de la PPI-Fc à prévenir la maladie après administrations intranasales répétées chez des souris NOD jeunes, et nous identifierons les mécanismes thérapeutiques en jeu.

RÉSULTATS

- Nous avons vérifié l'expression du FcRn dans l'épithélium nasal de la souris NOD, confirmé par résonance magnétique de surface, la liaison du PPI-Fc aux FcRn murins, et démontré une bonne biodisponibilité de la PPI-Fc administrée par voie intranasale.
- Nous avons mis au point les marquages pour identifier par cytométrie spectrale les populations lymphoïdes et myéloïdes présentes dans le NALT (nasal-associated lymphoid tissue), les poumons, les ganglions pancréatiques et la rate.
- Nous avons développé un modèle d'allergie cutanée à l'insuline chez la souris NOD, consistant en des sensibilisations intradermiques avec de l'insuline diluée dans l'alum. L'allergie est marquée par l'augmentation de l'extravasation après challenge à l'oreille, des taux d'IgE sériques et des réponses Th2 spécifiques d'insuline.
- Nous avons établi la preuve de concept de l'efficacité de la PPI-Fc intranasale à réduire les réactions allergiques.
- Nous avons établi les collaborations et protocoles nécessaires pour la mesure des IgE spécifiques d'insuline, la dégranulation des mastocytes, le rôle des lymphocytes T régulateurs et des lymphocytes B spécifiques d'insuline.
- Nous avons initié les traitements de prévention du DT1 chez la souris NOD avec la PPI-Fc intranasale (en cours).

Publications

- Sola-Gazagnes A, Pecquet C, Berré S, Achenbach P, Pierson LA, Virmoux-Buisson I, M'Bemba J, Elgrably F, Moguellet P, Boitard C, Caillat-Zucman S, Laanani M, Coste, Larger E, Mallone R. **Insulin allergy: a diagnostic and therapeutic strategy based on a retrospective cohort and a case-control study.** Diabetologia. 2022 Aug; 65(8):1278-1290. doi: 10.1007/s00125-022-05710-9. PubMed PMID: 35505238.
- Deligne C, You S and Mallone R. **Personalized immunotherapies for type 1 diabetes: who, what, when and how?** J Pers Med. 2022 Mar 29; 12(4):542. doi: 10.3390/jpm12040542. PubMed PMID: 35455658.



BIHAPI

BIOMARQUEURS INNOVANTS DES HYPERTENSIONS ARTÉRIELLES PULMONAIRES PAR L'IMAGERIE

PARIS : INSERM - CNRS - CEA
SOUTENU DEPUIS 2023

Sylvia COHEN-KAMINSKY, Bertrand KUNHAST & M. ALAMI

CONTEXTE

BIHAPI adresse un besoin médical irrésolu de l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP), une maladie rare du vaisseau pulmonaire, actuellement incurable et mortelle. L'HTAP est définie par une élévation de la pression artérielle pulmonaire, due à une obstruction progressive des petites artères pulmonaires, conduisant à l'insuffisance cardiaque droite. On parle de remodelage vasculaire pulmonaire (1).

Les traitements existants ciblent la vasoconstriction, ne sont pas curatifs mais améliorent la qualité de vie et la survie. La médiane de survie reste < 5 ans et les cas réfractaires sont candidats à une transplantation pulmonaire. La maladie veino-occlusive pulmonaire (MVOP) est une forme d'HTAP difficile à diagnostiquer qui représente jusque 10% des patients initialement diagnostiqués à tort HTAP idiopathique, avec des conséquences sur la prise en charge. En plus du remodelage artériel, ces patients présentent un remodelage veineux et une prolifération des capillaires (hémangiomatose) responsable d'hypoxémie (baisse du taux d'oxygène dans le sang). La MVOP est un désert thérapeutique, car les traitements vasodilatateurs proposés aux patients HTAP ne sont pas indiqués en raison d'un risque d'œdème pulmonaire sévère et mortel (1).

Il n'existe actuellement aucun biomarqueur du remodelage vasculaire pulmonaire. Un diagnostic basé sur ce remodelage pourrait être plus précoce et favoriser une meilleure réponse aux traitements actuels et futurs. BIHAPI combine recherche fondamentale pluridisciplinaire et recherche translationnelle pour relever ce défi et proposer des biomarqueurs innovants des HTAP, dont la MVOP, par l'imagerie moléculaire, selon deux objectifs complémentaires.

OBJECTIFS

Objectif 1 : Développer un traceur pour l'imagerie moléculaire du remodelage vasculaire pulmonaire. BIHAPI capitalise sur la découverte initiale, du rôle du récepteur NMDA (NMDAR) dans le remodelage vasculaire conduisant à l'HTAP (2) et sur le développement de séries chimiques originales brevetées et protégées mondialement, d'antagonistes des NMDAR sélectivement périphériques (ne passant pas la barrière hémato-encéphalique), à visée thérapeutique et ciblant le remodelage vasculaire (3). L'activation et l'engagement du NMDAR spécifiquement dans les artères remodelées de poumons de patients HTAP est une pierre angulaire de BIHAPI. Nous mettons au point un radiotracer ciblant le NMDAR activé, utilisable en imagerie TEP chez l'Humain pour tracer l'engagement du NMDAR dans les artères pulmonaires remodelées de patients (4), comme biomarqueur du remodelage vasculaire pulmonaire. Notre ambition est d'atteindre le « first-in-Human » dans une étude pilote d'ici 3 ans. A la fin du projet nous serons passés du niveau TRL1 à TRL7 dans l'échelle « Technology Readness Level ».

Objectif 2 : Caractériser les signatures moléculaires spatiales du remodelage vasculaire pulmonaire dans les HTAP, dont la MVOP. Disposant d'une banque exceptionnelle et organisée de tissus pulmonaires issus de poumons explantés lors de la transplantation pulmonaire des patients, nous conduisons une étude moléculaire du remodelage vasculaire à partir de sous-populations de patients (HTAP idiopathique, HTAP héréditaire, MVOP). Nous allons combiner analyse en cellule unique et transcriptomique spatiale, afin d'identifier les signatures moléculaires spatiales du remodelage vasculaire, et modéliser les mécanismes de remodelage dans ces différentes sous-populations de patients. Nous allons aussi explorer la singularité des remodelages artériolaire, artériel et veineux par le prisme de leurs signatures moléculaires, en utilisant comme outil complémentaire le traceur du remodelage développé dans l'objectif 1.

RÉSULTATS

Nos traceurs du remodelage vasculaire pulmonaire auront plusieurs applications, notamment : i) permettre un diagnostic précoce et non invasif de l'HTAP, en alternative au gold-standard, le cathétérisme cardiaque droit qui est invasif, risqué, peu spécifique et tardif, ii) proposer un diagnostic différentiel de la MVOP parmi les HTAP. A terme, ils pourraient servir à identifier les patients susceptibles de répondre à une thérapie anti-remodelage et à suivre l'efficacité de cette thérapie, quelle que soit la cible thérapeutique. Ces traceurs feront l'objet d'un ou plusieurs brevets. Les signatures moléculaires des différents types de lésions vasculaires pulmonaires rencontrées dans l'HTAP et la MVOP constitueront autant de pistes futures valorisables, pour des biomarqueurs innovants du remodelage vasculaire pulmonaire.

Outre l'acquisition de nouvelles connaissances en dehors des sentiers battus, les retombées de ces nouvelles solutions de diagnostic précoce et différentielles de l'HTAP et de la MVOP sont considérables, mesurables et attendues pour satisfaire des besoins médicaux critiques : i) éviter les risques associés au cathétérisme cardiaque droit, ii) limiter la durée de l'errance diagnostique qui est actuellement de 3 ans post-diagnostic, iii) orienter la prise en charge des patients en fonction du diagnostic différentiel du sous-groupe de la maladie HTAP ou MVOP et iv) optimiser l'efficacité des traitements actuels et futurs, sachant que plus la maladie est diagnostiquée tôt, meilleure est la survie sous traitement. La combinaison théranostique associant diagnostic précoce et nouvelles options thérapeutiques ciblant le remodelage vasculaire en cours de développement sera, sans aucun doute, transformante pour la prise en charge des patients et contribuera à diminuer le fardeau de la maladie ainsi que ses coûts socio-économiques.

Publications

- Humbert M, Kovacs G, Hoepfer MM, Badagliacca R, Berger RMF, Brida M, et al and the ESC/ERS Scientific Document Group. **2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension.** European Respiratory Journal 2022. doi 10.1183/13993003.00879-2022.



XENOTRANSPLANT



DÉVELOPPEMENT D'OUTILS INNOVANTS DE MÉDECINE DE PRÉCISION POUR ACCÉLÉRER LES ESSAIS CLINIQUES EN XÉNOTRANSPLANTATION CHEZ L'HOMME

PARIS : Fondation de l'APHP
SOUTENU DEPUIS 2023

Pr Alexandre LOUPY

CONTEXTE

En fournissant une source illimitée et renouvelable d'organes, la xénotransplantation a tout le potentiel pour résoudre la pénurie mondiale d'organes. L'utilisation d'organes de porcs transgéniques a complètement révolutionné ce domaine de recherche, en réduisant considérablement le risque de rejet. Fin 2021, les premiers reins de porcs génétiquement modifiés ont été transplantés chez des receveurs humains en état de mort cérébrale. Ils sont restés parfaitement fonctionnels pendant toute la durée de l'étude, sans aucun signe apparent de rejet hyperaigu. Cette prouesse scientifique historique a eu un impact médiatique majeur et a donné un élan d'espoir pour le développement de la xénotransplantation chez l'homme.

Le risque de rejet reste néanmoins encore une préoccupation, notamment à long terme. En effet, mon équipe vient de démontrer grâce à une approche multimodale intégrant plusieurs outils de diagnostic de précision, que ces premiers cas de xéno greffes présentent des lésions infracliniques de rejet humoral, pouvant avoir un impact sur la fonction des xénotransplants à long terme.

Le rejet étant la cause principale de perte de greffe, ces résultats soulignent qu'une approche diagnostique intégrative est nécessaire pour comprendre et évaluer la complexité et l'hétérogénéité des lésions pouvant survenir après une xénotransplantation. Le développement d'outils de médecine de précision adaptés aux études inter-espèces est une étape nécessaire pour accélérer les essais cliniques chez l'homme, et optimiser les résultats de survie des xénotransplants à long terme.

OBJECTIFS

L'objectif de ce projet est de développer des outils innovants de diagnostic de précision appliqués à la xénotransplantation afin de :

1. mieux caractériser la réponse xéno-immune et comprendre l'ensemble du spectre des lésions des xéno greffes
2. fournir des preuves scientifiques pour l'optimisation des modèles de porcs génétiquement modifiés, guider le choix des traitements immunosuppresseurs, et ainsi accélérer les prochains essais cliniques de xénotransplantations chez l'homme.

Pour mener à bien ce projet, mon équipe bénéficiera de collaborations scientifiques solides et déjà établies avec des équipes de pointe en xénotransplantation, pour intégrer nos nouvelles approches dans les prochaines expérimentations chez l'homme.

Ce projet de recherche s'articulera autour de quatre axes, menés en collaboration avec nos partenaires scientifiques internationaux :

Objectif 1 : Adapter les outils de médecine de précision pour une utilisation en xénotransplantation.

Objectif 2 : Standardiser en temps réel le phénotypage extensif prospectif des prochaines xénotransplantations de reins de porc réalisées.

Objectif 3 : Caractériser précisément les processus biologiques opérationnels impliqués dans la réponse xéno-immune.

Objectif 4 : Optimiser les prochaines expérimentations chez l'homme en sélectionnant les meilleurs modèles de porcs transgéniques, guidant le choix des traitements immunosuppresseurs et en repositionnant des molécules déjà existantes pour une utilisation en xénotransplantation.

RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES

Nous avons constitué un consortium composé de cliniciens, anatomo-pathologistes, bio-informaticiens et ingénieurs qui a commencé à développer les premiers outils de diagnostic de précision applicables en xénotransplantation. En étudiant les premiers cas de xéno greffe, nous avons réalisé la première description historique d'un rejet de reins de porc chez l'homme. L'analyse histo-moléculaire des xénotransplants a mis en évidence des lésions évocatrices de rejet humoral avec un phénotype atypique, médié par les cellules de l'immunité innée sans activation du complément.

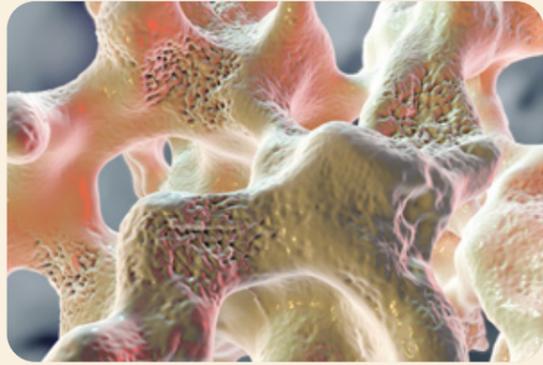
Nous avons également décrit le premier signal moléculaire de rejet de reins de porcs transgéniques transplantés chez un receveur humain. Ce travail, fruit de notre expérience en technologies multimodales de pointe et mené en collaboration avec nos partenaires internationaux, a été récemment publié par la prestigieuse revue Lancet (Loupy, Goutaudier, Giarraputo *et al*, Lancet, 2023).

Publications

1. Loupy A, *et al*. **Immune response after pig-to-human kidney xenotransplantation: a multimodal phenotyping study.** Lancet. 2023.
2. Z Demir, *et al*. **Identification of liver transplant biopsy phenotypes associated with distinct biological markers and allograft survival.** Am J Transplantation. 2023.
3. Raynaud M, *et al*. **BMJ.** 2023.
4. Yoo D, *et al*. **An automated histological classification system for precision diagnostics of kidney allografts.** Nature Medicine. 2023.
5. Giarraputo A, *et al*. **Banff Human Organ Transplant consensus gene panel for the detection of antibody-mediated rejection in heart allograft biopsies.** Transpl Int. 2023.



RHUMATOLOGIE



ADIM

L'ADIPOSITÉ MÉDULLAIRE : UN NOUVEAU TISSU

BOULOGNE-SUR-MER - LILLE : MABLAB -
Université du Littoral Côte d'Opale - Université Lille

ADIMetabone

Dr Stéphanie LUCAS

SOUTENU DEPUIS 2018

CONTEXTE & OBJECTIFS

La quantité d'adipocytes de la moelle osseuse augmente dans différents types d'ostéoporose. La proportion d'adipocytes médullaires est notamment bien corrélée aux taux d'hémoglobine glyquée dans l'ostéoporose des sujets obèses et diabétiques de type 2 dont la qualité osseuse est déficiente. Ces données sous-tendent l'implication des adipocytes médullaires dans la fragilité osseuse encore mal comprise de ces maladies métaboliques. Le projet ADIMetabone a pour objectif de définir si des facteurs métaboliques tels que l'hyperglycémie et le stress oxydant régulent les activités sécrétrices des adipocytes médullaires et interfèrent avec la formation osseuse assurée par les ostéoblastes. Dans ce contexte, nous étudions plus spécifiquement l'impact des remaniements de la matrice extracellulaire (MEC) produits par des adipocytes médullaires en condition hyperglycémique sur les mécanismes de l'ostéogénèse à partir :

- 1) de cellules mésenchymateuses stromales médullaires, précurseur commun aux ostéoblastes et aux adipocytes, issues de plusieurs donneurs humains ;
- 2) du modèle murin d'ovariectomie qui développe une obésité et un état pré-diabétique ;
- 3) d'échantillons obtenus lors de la pose de prothèse de genou de patientes post-ménopausées (protocole MEDADIPO, NTC0367883).

RÉSULTATS

Notre première étude a déterminé que les adipocytes médullaires différenciés *in vitro* répondent à une élévation de la concentration de glucose et des taux de ROS en modifiant leur phénotype et leur capacité de sécrétion d'adipokines vers un profil défavorable à l'os.

Notre seconde étude a permis de caractériser un nouveau modèle de MECs produites par les adipocytes médullaires cultivés à faible et forte concentration de glucose. Plusieurs analyses biochimiques confirment la bonne intégrité des MECs après élimination des adipocytes ainsi qu'une modification de leur composition en fonction de la concentration de glucose. Les MECs adipocytaires favorisent l'adhésion et la prolifération des cellules précurseurs sans modifier leur différenciation en ostéoblastes. Toutefois les ostéoblastes générés sur MECs adipocytaires produisent une quantité plus réduite de minéral qui présente par ailleurs plusieurs altérations de qualité par rapport aux contrôles. Ces altérations diffèrent de celles provoquées par la plus forte concentration de glucose seule, suggérant ainsi que les adipocytes médullaires compromettent la qualité osseuse dans l'ostéoporose.

La poursuite de nos travaux met en évidence que les adipocytes médullaires obtenus *in vitro* ou *ex vivo* (après isolement du modèle murin d'ovariectomie et de patientes ménopausées) produisent des composants matriciels différents des cellules médullaires environnantes et/ou des adipocytes non médullaires. L'expression de ces composants sera analysée 1) en lien avec la qualité osseuse chez les souris ovariectomisées après amélioration de leurs défauts d'homéostasie glycémique et 2) en fonction de plusieurs paramètres métaboliques mesurés chez les patientes post-ménopausées.

A terme, ce projet translationnel définira si les activités des adipocytes médullaires sont régulées par facteurs métaboliques et permettra l'élaboration de nouvelles stratégies de prise en charge de la fragilité osseuse dans l'ostéoporose.

Publications

1. Entz L, Falgayrac G, Chauveau C, Pasquier G, Lucas S. **The extracellular matrix of human bone marrow adipocytes and glucose concentration differentially alter mineralization quality without impairing osteoblastogenesis.** Submitted for revision to Bone Reports.
2. Lucas S, Tencerova M, Weid Bvd, Andersen TL, Attane C, Behler-Janbeck F, Cawthorn WP, Ivaska KK, Naveiras O, Podgorski I, Reagan MR and van der Eerden CJ. (2021) **Guidelines for Biobanking of Bone Marrow Adipose Tissue and Related Cell Types, the Biobanking Working Group for the International Bone Marrow Adiposity Society.** (BMAS) Front Endocrinol. 12:744527. doi: 10.3389/fendo.2021.744527.
3. Rharass T, Lucas S. (2019) **High Glucose Level Impairs Human Mature Bone Marrow Adipocyte Function Through Increased ROS Production.** Front Endocrinol 10:607. doi:10.3389/fendo.2019.00607.

LIPIDO_s

Dr Alexandrine DURING

SOUTENU DEPUIS 2018

CONTEXTE & OBJECTIFS

Les lipides sont des acteurs clés de la physiologie osseuse, notamment lors de l'initiation du processus de minéralisation. Qu'en est-il de pathologies osseuses telles que l'ostéoporose (OP) dont la perte osseuse est associée à une augmentation de l'adiposité médullaire ? Quels types de lipides sont augmentés ? Quelles en sont les conséquences sur l'os ? L'hypothèse ici est qu'il y aurait une dérégulation intra-osseuse d'une ou plusieurs voie(s) métabolique(s) associée(s) aux lipides qui jouerai(en)t un rôle dans cette perte osseuse. Ce projet représente une forte originalité via son approche locale, de par la caractérisation des lipides dans 2 compartiments de l'os : la moelle et le tissu minéralisé. Nos travaux préliminaires, réalisés chez la ratte ovariectomisée OVX (modèle d'OP post-ménopausique), ont par ailleurs montré des modifications locales de la composante lipidique dans les fémurs OVX à 9 mois post-ovariectomie (stade avancé), en particulier, l'augmentation des 2 indices (16:1/16:0 et 18:1/18:0) de l'activité $\Delta 9$ -désaturase ; une enzyme impliquée dans une variété de troubles métaboliques, incluant l'obésité, la résistance à l'insuline, le diabète, la stéatose hépatique, l'inflammation et l'athérosclérose.

Les principaux objectifs du projet sont : 1) caractériser les variations locales de la composante biochimique en relation avec l'altération de l'os au cours du vieillissement et de stades précoces après ovariectomie, 2) identifier des molécules candidates qui pourraient être responsables de la perte osseuse et 3) explorer les mécanismes par lesquels ces molécules pourraient altérer la qualité osseuse.

RÉSULTATS

Dans ce projet, l'effet « OVX » est étudié à des stades précoces du développement de la perte osseuse (1, 3 et 5 mois post-ovariectomie) et l'effet « vieillissement » à 6, 12 et 18 mois d'âge.

Les premiers résultats confortent notre étude préliminaire, à savoir l'augmentation des deux ratios 16:1/16:0 et 18:1/18:0 dans les fémurs des rattes OVX, comparé aux rattes témoins pour un stade donné, mais aussi avec l'âge des rattes. Deux corrélations ont pu être établies entre différents paramètres biochimiques et physiques : 1) une relation inverse entre la quantité des lipides totaux présents dans la moelle osseuse et l'épaisseur trabéculaire et 2) une relation positive entre le rapport 18:1/18:0 et le taux de porosité de l'os cortical des fémurs. En parallèle, les fluides médullaires des tibias sont à l'étude concernant les produits de sécrétion d'origine adipocytaire. Parmi eux, nous avons pu observer une augmentation marquée du taux de l'adiponectine dès le stade de 1 mois post-ovariectomie, qui se poursuit aux deux autres stades. A noter que le taux sérique d'adiponectine pourrait refléter l'activité des adipocytes médullaires. Le projet suit son cours et des analyses génétiques par micro-array des fractions « adipocytes » et « ostéocytes » isolées à partir de la moelle des tibias devraient démarrer très prochainement.

PERSPECTIVES

Ce travail devrait nous conduire à une meilleure compréhension de la composante lipidique locale dans la physiopathologie de la perte osseuse et l'identification de nouveaux biomarqueurs relevant du statut lipidique avec une valeur discriminante élevée pour l'OP.

Publications

1. During A, Coutel X, Bertheaume N, Penel G, Olejnik C. **Long term ovariectomy-induced osteoporosis is associated with stearoyl-CoA desaturase indexes in rat femur.** Calcif. Tissue Inter. (2020) 106:315-324.
2. During A. **Osteoporosis: A role for lipids.** Biochimie. (2020) 178:49-55.



MICROBONE

MICROBIOTE ET OS

LYON : INSERM - CHU Lyon
SOUTENU DEPUIS 2017

Pawel SZULC & Roland CHAPURLAT

CONTEXTE

Association entre le microbiome intestinal et la fragilité osseuse chez la femme ménopausée.

Le microbiote intestinal (MI) joue un rôle majeur dans la régulation métabolique chez l'humain. Le tube digestif est colonisé par les bactéries sur toute sa longueur. Firmicutes et Bacteroidetes représentent >90% du MI chez l'adulte. Les données sur le lien entre le MI et l'os ont été obtenues surtout dans des études expérimentales, par ex. les souris axéniques ont une masse osseuse élevée et une résorption osseuse abaissée.

L'ostéoporose est caractérisée par une densité minérale osseuse (DMO) basse et par une détérioration de la microarchitecture osseuse. Le MI joue un rôle majeur dans la physiopathologie de l'ostéoporose post-ménopausique. Chez la souris, une ovariectomie induit des modifications du MI. Après la ménopause, on observe une baisse de la diversité du MI, un enrichissement en Bacteroidetes, un appauvrissement en Firmicutes. Le MI régule le métabolisme osseux surtout par le biais des cytokines inflammatoires et par le biais des acides gras à chaîne courte (AGCC) par ex. l'acide butyrique qui inhibe la résorption osseuse et stimule la formation osseuse.

Les données cliniques sur le lien entre le MI et l'os s'accumulent, mais ce lien n'est pas encore bien placé dans le contexte clinique : pathogène, protecteur, marqueur.

OBJECTIFS

Le but principal est d'étudier le statut du MI en fonction de la DMO et des antécédents (ATCDs) personnels de fracture chez la femme ménopausée. Les objectifs secondaires comprennent une étude de la relation du statut du MI avec le statut osseux (microarchitecture osseuse au niveau du radius distal et du tibia distal, marqueurs du remodelage osseux) et avec le statut musculaire (force de préhension, performance physique) chez la femme ménopausée.

RÉSULTATS

Le MI a été décrit dans quatre groupes de femmes. Dans le groupe avec une DMO normale et sans ATCD de fracture, le MI est caractérisé par les taux élevés d'*Akkermansia muciniphila*, *Odoribacter splanchnicus*, *Roseburia intestinalis* et *Faecalibacterium prausnitzii* dans les selles. Ces espèces sont associées à un bon état de santé et produisent l'acide butyrique. Dans le groupe avec une DMO ostéoporotique, le MI est caractérisé par les taux élevés de *Veillonella parvula* et de *Klebsiella michiganensis* dans les selles. Ces groupes ont des taux abaissés de bactéries associées à un bon état de santé, par ex. *Coprococcus comes*, *Dorea formicigenerans*, *Odoribacter splanchnicus* ou *Faecalibacterium prausnitzii*.

La composition du MI chez les femmes avec une DMO normale et avec des ATCDs de fracture est caractérisée d'une part par les taux élevés de bactéries produisant l'acide butyrique et associées à une DMO normale (par ex. *Agathobaculum butyriciproducens*) et d'autre part, par des taux élevés de bactéries associées à l'ostéoporose (par ex. *Streptococcus vestibularis*, *Veillonella parvula*). Les femmes ostéoporotiques avec les ATCDs de fracture ont des taux abaissés d'*Agathobacter rectale*, de *Coprococcus comes*, de *Lactococcus lactis* et de *Bacteroides coprocola* par rapport aux femmes ostéoporotiques sans fracture. Plusieurs espèces du genre *Blautia* (*Blautia obeum*, *Blautia wexlerae*, *Blautia hydrogenotrophica*) ont été retrouvés également dans les deux groupes avec les ATCDs de fracture.

WHAT'S NEW ?

Dans un grand groupe de femmes ménopausées âgées de 60 et plus, la composition du MI varie en fonction de la DMO (ostéoporotique, normale) et des ATCDs de fracture. Le bon état osseux (DMO normale, absence d'ATCD de fracture) est associé à des taux élevés de bactéries produisant l'acide butyrique.

Publication

1. Szulc P, Meslier V, Wagner P, Morabito C, Galleron N, Gabou Thiam M, Pons N, Dusko Ehrlich S, Doré J, Chapurlat R, Roume H. **Gut microbiota and bone status in postmenopausal women**. Pilot study. *J Bone Miner Res*, 2020, Vol 35, Suppl 1, 220, P-551.



GÉNÉTIQUE & AUTRES PROJETS



AUTOGEN

GÉNÉTIQUE ET AUTO-IMMUNITÉ

📍 STRASBOURG : INSERM - CHU Strasbourg
SOUTENU DEPUIS 2017

Dr Seiamak BAHRAM (Immunologie),
Pr Jean SIBILIA (Rhumatologie), coordinateurs du projet
& Raphael CARAPITO (Immunologie), membre de l'équipe projet

CONTEXTE

Les maladies auto-immunes, affectant un ou plusieurs tissus / organes / systèmes, sont des pathologies multifactorielles caractérisées par la perte de tolérance au soi, dont le mécanisme et les déterminants génétiques ne sont pas encore entièrement élucidés chez l'homme et ce malgré (au niveau génétique) de nombreuses études d'associations pan-génomiques à grande échelle (GWAS, Genome-Wide Association Studies).

OBJECTIFS

Le but d'AUTOGEN est de caractériser en détail le « fond génétique » de l'auto-immunité par le séquençage de génomes/exomes et le séquençage en profondeur d'haplotypes complets du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH). Ce projet a pour finalité d'étudier les réseaux physiopathologiques ainsi que d'identifier des gènes clés et/ou des cibles thérapeutiques qui permettront *in fine* d'améliorer le diagnostic, le pronostic et le traitement des maladies auto-immunes.

RÉSULTATS

A ce jour, plus de 1000 exomes de cas familiaux ou de phénotypes « extrêmes » de pathologies auto-immunes/dysimmunitaires ont été analysés, ce qui a permis l'identification de plus de 10 nouveaux gènes candidats. Nous avons par exemple récemment pu identifier et valider le rôle d'une mutation gain de fonction du gène WAS dans une maladie associant à la fois un phénotype hématologique de neutropénie liée à l'X (macrothrombocytopénie et neutropénie) et une maladie rénale (protéinurie, insuffisance rénale) (Marx et al. 2022). Au-delà des identifications de nouveaux gènes, les mécanismes physiopathologiques ont également été étudiés. Nous avons notamment validé le rôle du gène MICA, qui est aussi connu

pour son rôle en autoimmunité (Carapito et al. 2017), dans le rejet de greffe rénale (Carapito et al. 2022). Sur un plan méthodologique, nous avons développé une nouvelle méthode de sélection de variables à partir de données de type « omiques » qui a permis d'améliorer nos analyses complexes (Bertrand et al. 2021). Ces méthodologies expérimentales développées dans le cadre du projet AUTOGEN ont pu être appliquées à d'autres pathologies pour notamment caractériser la réponse inflammatoire à l'infection à SARS-CoV-2 au niveau multi-omique (Carapito et al. 2022).

WHAT'S NEW ?

Nous avons désormais atteint l'objectif de 1000 exomes de pathologies auto-immunes/dysimmunitaires. Ces nouvelles données de séquençage ont permis l'identification de nouvelles mutations responsables de déficits immunitaires (Tajik *et al.*, 2023 ; Fazlollahi *et al.*, 2023 ; Alizadeh *et al.*, 2023), ainsi que d'un nouveau gène responsable de l'autoinflammation dans le syndrome NOCARH (Kapp *et al.*, 2023). Par ailleurs, les approches d'analyses multi-omiques développées dans le cadre du projet AUTOGEN ont été appliquées à d'autres pathologies (Mayeur *et al.*, 2023a, Mayeur *et al.*, 2023b).

Publications

- Alizadeh *et al.* 2023. **Clinical, immunological and molecular findings of 8 patients with typical and atypical severe combined immunodeficiency: identification of 7 novel mutations by whole exome sequencing.** *Genes Immun.* 24(4):207-214.
- Kapp *et al.* 2023. **C-terminal variants in CDC42 drive type I interferon-dependent autoinflammation in NOCARH syndrome reversible by ruxolitinib.** *Clin Immunol.* 256:109777
- Mayeur *et al.* 2023. **Multiomics of three hematological malignancies in a patient reveal their origin from clonal hematopoietic stem cells.** *Blood Cancer J.* 13(1):118.
- Mayeur *et al.* 2023. **Genomic profiling of a metastatic anaplastic melanocytic neuroectodermal tumor arising from a mature thymic teratoma as part of a mediastinal germ cell tumor.** *Cold Spring Harb Mol Case Stud.* 9(2).
- Marx *et al.* 2022. **A gain-of-function variant in the Wiskott-Aldrich syndrome gene is associated with a MYH9-related disease-like syndrome.** *Blood Adv.* 6(18):5279-5284.
- Carapito *et al.* 2022. **The MHC class I MICA gene is a histocompatibility antigen in kidney transplantation.** *Nat Med* 28(5): 989-998.
- Carapito *et al.* 2022. **Identification of driver genes for critical forms of COVID-19 in a deeply phenotyped young patient cohort.** *Sci Transl Med* 14(628): eabj7521.



OMIN

OBSERVATOIRE NATIONAL DES MORTS INATTENDUES DU NOURRISSON

📍 NANTES : CHU Nantes - ANCRéMIN - CIC Nantes - INSERM
SOUTENU DEPUIS 2018

Dr Karine LEVIEUX

CONTEXTE

La mort inattendue du nourrisson (MIN) est « le décès d'un nourrisson survenant brutalement alors que rien, dans ses antécédents, ne pouvait le laisser prévoir ».

Elle constitue la première cause de mortalité en France entre 1 mois et 1 an, représentant environ 250 à 350 décès par an ; la France est l'un des pays à plus fort taux en Europe. Après réalisation de la totalité des investigations post-mortem recommandées par la Haute Autorité de Santé (HAS), soit la cause du décès est identifiée (cardiaque, génétique, métabolique, traumatique...), soit non, on parle alors de Mort Subite du Nourrisson (MSN) qui représente environ 50 à 70% de ces décès).

Actuellement, beaucoup d'interrogations et d'inconnues persistent quant à l'origine de ces décès. En 2015 le CHU de Nantes, en collaboration avec l'Association Nationale des Centres Référents de la Mort Inattendue du Nourrisson (ANCRéMIN), a mis en place un Observatoire national des MIN (registre OMIN). Cet observatoire labellisé registre depuis le 1^{er} janvier 2021 recueille les données de tous les enfants de moins de 2 ans décédés de MIN et pris en charge dans l'un des 37 centres de références MIN français, DROM-COM compris. Le registre OMIN est actuellement le seul observatoire au monde permettant de recueillir prospectivement des données épidémiologiques, socio-environnementales, médicales, paramédicales, radiologiques et autopsiques des enfants décédés de MIN. En 2020, une biocollection (bioMIN) y a été associée, elle devrait permettre de mettre en place des travaux de recherche fondamentale (génétiques, métaboliques, cardiaques...).

OBJECTIFS

- Mettre en œuvre au niveau national une surveillance sanitaire, actualisée et rigoureuse des MIN.
- Suivre et analyser au niveau national les variations géographiques et temporelles d'incidence et réaliser des comparaisons inter-régionales et internationales valides.
- Etudier les disparités des pratiques de prise en charge des centres référents MIN, les optimiser par standardisation.
- Etudier les caractéristiques des MIN (sociodémographiques, environnementales, médicales) et notamment la part des MIN liées à la maltraitance.



- Identifier des nouveaux facteurs de risque de MIN par comparaison à des cohortes de survivants notamment grâce au Système National de Données de Santé (SNDS).
- Conduire des travaux épidémiologiques sur la fréquence et les déterminants (notamment les inégalités sociales) de non mise en œuvre des stratégies de réduction des risques par collaboration avec les grandes études nationales (par exemple, Enquêtes Nationales Périnatales).
- Construire et évaluer des approches innovantes d'éducation à la santé pouvant atteindre notamment les populations les plus défavorisées pour optimiser les pratiques de réduction des risques et diminuer l'incidence de la MIN.
- Initier ou participer à des travaux de santé publique européens dans le domaine des MIN.

A moyen terme, le but de cet observatoire est de mieux comprendre cette pathologie afin de diminuer le nombre de cas de MIN.

RÉSULTATS

A ce jour, 1 510 cas de MIN ont été recensés dans le registre OMIN dont 125 ont une biocollection associée, 3 publications ont été réalisées, 2 sont en cours de soumission, 3 sont en cours de rédaction et 8 nouveaux projets de recherche sont en cours à partir des données du registre.

L'OMIN est actuellement le seul système permettant d'assurer une surveillance épidémiologique des MIN en France. Toutes les données sont régulièrement monitorées, assurant la qualité des données incluses. Les autres données disponibles en France sont celles du Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès (CépiDc), celui-ci étant en difficulté pour estimer l'incidence de la MIN et de la MSN ; en effet, les données sont issues uniquement du certificat de décès initial et les conclusions des investigations post-mortem lui sont rarement transmises. De plus, ces données ne sont disponibles qu'avec un délai d'au moins deux ans ce qui ne permet pas d'assurer une surveillance épidémiologique en temps réel.

Publications

- Levieux K, Patural H, Harrewijn I, Briand Huchet E, de Visme S, Gallot G, Chalumeau M, Gras Le Guen C, Hanf M; OMIN Study Group. **The French prospective multisite registry on sudden unexpected infant death (OMIN): rationale and study protocol.** *BMJ Open.* 2018 Apr 17;8(4): e020883.doi: 10.1136/bmjopen-2017-020883. PubMed PMID: 29666137.
- Claudet I, de Visme S, Duthoit G, Barnet L, Marchand-Tonel C, Chever M, Daussac E, Bréhin C, Levieux K; OMIN Study Group. **Prevalence of positive toxicology analysis from the French national registry for sudden unexpected infant death (Tox-MIN).** *Clin Toxicol (Phila).* 2022 Jan; 60(1):38-45. doi: 10.1080/15563650.2021.1933005. Epub 2021 Jun 3. PubMed PMID: 34080518.



DEVO-DECODE

GÉNÉTIQUE ET MALADIES RARES

PARIS : Institut IMAGINE
SOUTENU DEPUIS 2017

Vincent CANTAGREL LAB,
Decoding neurodevelopmental disorders in humans

CONTEXTE

Neurodevelopmental disorders (NDD) encompass a highly heterogeneous group of diseases characterized by impairments in cognition, communication, behavior or motor functioning as a result of atypical brain development. This group of disease includes intellectual disability, autism, attention deficit hyperactivity disorder, specific learning disorder, and motor disorders. Epidemiological studies show that co-occurrence of several neurological features is the rule. This phenotypic overlap is also mirrored at the genetic level. Taken together, these observations support the existence of common pathophysiological mechanisms for DBD which should be viewed as a continuum of developmental brain dysfunction. Despite recent progresses, a large number of cases remain unexplained. With a combined prevalence of up to 3% of the population, NDD accounts for 10% of the total health care cost in most Western countries. Understanding the biological bases of these conditions is thus a major medical and socio-economical challenge.

OBJECTIFS

Our objectives include the use of genome sequencing and alternative methods to detect new mutations and characterize structural variants involved in NDD.

1. Current standard genetic technologies such as short-read sequencing and chromosomal microarray analysis have limitations to characterize complex chromosomal rearrangements. To overcome this limitation, we tested an alternative and emerging technology, optical genome mapping to characterize a complex genomic disorder.
2. Alternatively, we used genome and exome sequencing on a cohort of patients with cerebellar developmental defects to identify new genetic causes.

RÉSULTATS

1. In Nicole *et al.* (2022), we have identified and molecularly characterized two patients with a 16p13.11p11.2 triplication which was \approx 13.5 Mb in size. In order to determine the mechanisms underlying the chromosomal rearrangements in the two patients with syndromic intellectual disability, three combined technical approaches (FISH, Whole Genome Sequencing, Bionano Optical Mapping) were employed. Full genetic characterization of these types of events is challenging because of their complexity and the location

of the breakpoints within segmental duplications (SDs). These repeat sequences represent 5% of the genome. Unlike chromosomal microarray and short-read based NGS technologies, optical genome mapping was the only technology allowing us to fully characterize these complex chromosomal rearrangements involving SDs and to propose a mechanism that explains its formation.

2. In Coolen *et al.*, we identified several families with children presenting with cerebellar hypoplasia, severe neonatal brainstem dysfunction, and pronounced deficits in cognitive and motor development, associated with different bi-allelic mutations in PRDM13 gene. PRDM13 encodes a transcriptional repressor known to be critical for neuronal subtypes specification in the mouse retina and spinal cord, but had not been implicated, so far, in hindbrain development. Here, we show that loss-of-function of prdm13 in zebrafish, as well as in human, leads to a reduction in Purkinje cells numbers and a near complete absence of the inferior olive nuclei. Altogether our data identified biallelic mutations in PRDM13 as causing a new olivopontocerebellar hypoplasia syndrome.
3. In Nicolle *et al.* (2023), we recently identified a previously reported but poorly characterized non-coding variant. It is a homozygous variant in the 5'UTR of the RARS2 gene, in a patient with pontocerebellar hypoplasia (PCH). Interestingly, this variant was previously reported in a comparable case but its evaluation was based on incomplete functional exploration and inaccurate interpretation. We provided a replication of the original clinical observation, and demonstrate the impact of the variant on transcript and protein synthesis using bioinformatic and experimental approaches. This work highlights the importance of variant functional characterization, especially with genes such as RARS2 that are associated with a wide neurological clinical spectrum. Also, we point out the need of additional bioinformatic tools to analyze this type of mutation and discuss other published probably disease-causing variants in the Kozak sequence. This work illustrates that better analysis of such critical non-coding sequences is very likely to have a significant impact on NGS analysis.

Publications

1. Coolen M, *et al.* **Recessive PRDM13 mutations cause severe brainstem dysfunction with perinatal lethality, cerebellar hypoplasia and disrupt Purkinje cell differentiation.** *Am J Hum Genet.* 2022 May 5 ; 109(5):909-927.
2. Nicolle Romain, *et al.* **16p13.11p11.2 triplication syndrome: a new recognizable genomic disorder characterized by Optical Genome Mapping and whole genome sequencing.** *Eur J Hum Genet* 2022 Jun ; 30(6):712-720.
3. Nicolle R, *et al.* **A non-coding variant in the Kozak sequence of RARS2 strongly decreases protein levels and causes pontocerebellar hypoplasia.** *BMC Med Genomics.* 2023 Jun 21 ; 16(1):143.

imagine
INSTITUT DES MALADIES GÉNÉTIQUES



BIO 3DHE

BIOCONSTRUCTION 3D DU CŒUR ET DE L'ŒSOPHAGE

PARIS : Fondation de l'APHP - Hôpital Saint-Louis
SOUTENU DEPUIS 2017

Dr Lionel FAIVRE

CONTEXTE & OBJECTIFS

Le projet 3DHE vise à acquérir et à développer des technologies d'impression 3D pour le domaine de l'ingénierie tissulaire avec comme objectif de construire des tissus, des organoïdes et des organes à des fins de recherche et d'applications cliniques. Le projet s'articule en particulier autour de deux applications cliniques qui sont étudiées depuis plus de dix ans dans le laboratoire UTC de St-Louis : d'une part, la construction d'un substitut d'œsophage et, d'autre part, la construction d'un patch vascularisé qui permettrait d'augmenter la survie de tissus bioimprimés *in vitro* pendant leur maturation, puis *in vivo* après implantation.

RÉSULTATS

Substitut de l'œsophage :

Nous avons exploré la bioimpression par extrusion et la formulation de bioencres pour reproduire un substitut d'œsophage, présentant la morphologie et les propriétés natives de l'organe, en s'appuyant sur l'expertise du laboratoire dans le développement d'un œsophage décellularisé actuellement évalué en clinique. Une formulation complexe à base de poly-capro-lactone-co-glycolide, de polymères naturels, et d'agent moussant a été développée pour assurer les fonctions primordiales de soutien et de porosité du substitut œsophagien. Il s'agit ainsi de tenir compte des exigences d'élasticité, d'innocuité, de biocompatibilité, de suturabilité et in fine de dégradabilité, pour que le substitut puisse être recolonisé par les cellules du patient afin de régénérer un œsophage fonctionnel. Les substituts imprimés par bioimpression à extrusion de 3 cm de long et 2 cm de diamètre montrent une excellente tenue post-impression, une bonne cytocompatibilité sans générer de réponse immunogène *in vitro*, une recolonisation par des cellules *in vitro* avec la formation d'une couche de cellules épithéliales en surface, une migration de cellules endothéliales dans la matrice poreuse, une lente biodégradation dans un milieu mimant un environnement œsophagien, une excellente suturabilité à l'œsophage natif sans fuite même en appliquant une pression externe, et des propriétés mécaniques proches de l'organe natif. Ces développements ont donné lieu à un dépôt de brevet et une publication.

Patch vascularisé :

Un verrou majeur dans le domaine de l'ingénierie tissulaire serait levé si les tissus nouvellement fabriqués *in vitro* intégraient un système de vaisseaux sanguins permettant d'assurer l'apport en oxygène et en nutriments des cellules constituant le tissu créé. Notre approche vise à élaborer un feuillet contenant un réseau de micro-vaisseaux qui pourrait être intégré ensuite avec d'autres types cellulaires ou organoïdes pour en assurer la maturation *in vitro* et qui pourrait ensuite être anastomosé rapidement au système vasculaire du patient. Nous avons développé une technique de stéréolithographie (ou DLP Digital Light bioPrinting) qui permet d'auto-organiser des cellules progénitrices endothéliales en un réseau vasculaire à géométrie contrôlée et à échelle de capillaires sanguins. Nous avons poursuivi la caractérisation des réseaux vasculaires obtenus par DLP ainsi que leur évolution au cours du temps de culture. Différents hydrogels tels que l'alginate ou la fibrine permettent de recueillir le système vasculaire obtenu sous forme d'un feuillet manipulable.

WHAT'S NEW ?

Des expériences de microinjection de liquide fluorescent ont permis de montrer que le réseau de cellules endothéliales formait un arbre stable et perfusable. Nous avons également montré que cette approche pouvait également s'appliquer à d'autres types de cellules endothéliales, notamment des Human Dermal Microvasculature Endothelial Cells (HDMECs), des Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs), ainsi que des cellules endothéliales lymphatiques. Ces résultats sont actuellement en révision dans une publication soumis à Advanced Healthcare Materials. Actuellement nous poursuivons les expériences sur les tubes de cellules endothéliales en tentant de rajouter des péricytes afin de se rapprocher encore plus de la structure *in vivo* des capillaires.

Publications & brevet

1. **Biofabrication of an esophageal tissue construct from a polymer blend using 3D extrusion-based bioprinting.** Wissam Farhat, Dmitry Ayollo, Lousineh Arakelian, Briac Thierry, Elsa Mazari-Arrighi, Valentino Caputo, Lionel Faivre, Pierre Cattani, Jérôme Larghero, Francois Chatelain, Alexandra Fuchs* (2022) *Advanced Engineering Materials* 2200096.
2. **Trends in 3D bioprinting for esophageal tissue repair and reconstruction.** Wissam Farhat, François Chatelain, Auriane Marret, Lousineh Arakelian, Lionel Faivre, Pierre Cattani, Alexandra Fuchs. (2021) *Biomaterials* 267, 120465.
3. **Novel bioink and uses thereof for constructing tissues.** Wissam Farhat, Francois Chatelain, Alexandra Fuchs Filed 13/10/2021.
4. **Self-organization of long-lasting human endothelial capillary networks guided by dlp bioprinting.** Elsa Mazari-Arrighi, Matthieu Lepine, Dmitry Ayollo, Jerome Larghero, Francois Chatelain, Alexandra Fuchs (in revision *Advanced Healthcare Materials*).



RÉPIT

ÉVALUATION DE L'OFFRE DE RÉPIT AUX AIDANTS

LYON : Fondation France Répit
SOUTENU DEPUIS 2015

Henri de ROHAN CHABOT

CONTEXTE

Notre programme de recherche, mené avec le soutien du fonds de dotation MSDAVENIR, entre dans sa 8^{ème} année. Le dispositif de répit que nous avons développé, à titre expérimental, à Lyon, composé d'une Equipe mobile de répit et d'une Maison de répit, qui a ouvert ses portes en 2019, a maintenant pris sa place au sein de l'écosystème sanitaire et médico-social du territoire. Parallèlement, la reconnaissance, par les pouvoirs publics, des problématiques des proches aidants comme priorité en matière de santé publique est de plus en plus concrète, avec notamment la mise en place d'une stratégie nationale « Agir pour les aidants 2020-2022 », dont la reconduction a été annoncée à l'occasion de la journée nationale des proches aidants, le 6 octobre 2022, par notre Ministre des Solidarités, de l'Autonomie et des Personnes handicapées. De plus, des missions ont été confiées, sur demande de notre Fondation, à la HAS et à l'IGAS pour travailler sur un référentiel des pratiques (RBBP) et sur un cadre d'autorisation qui nous permettront de déployer plus facilement notre expérimentation Lyonnaise.

OBJECTIFS

Les objectifs de notre programme de recherche étaient les suivants :

- Capitaliser et diffuser des connaissances au sujet des proches aidants,
- Développer des outils d'aide à la décision pour l'évaluation de la situation des proches aidants,
- Évaluer l'efficacité du dispositif de répit déployé au sein de la métropole Lyonnaise.

RÉSULTATS

En matière de **capitalisation et de diffusion de connaissances**, nous avons publié un ouvrage intitulé : « Vers des soins de répit - Accompagner les proches aidants », ouvrage destiné à devenir une référence dans le domaine, qui reprend notamment les principaux résultats du programme de recherche que nous avons mené avec le soutien du fonds MSDAVENIR et qui est disponible sur demande à la Fondation France Répit. La tenue, en mars 2022, du 3^{ème} congrès francophone de répit et d'accompagnement des proches aidants,

promu par la Fondation France Répit, a également été l'occasion de diffuser ces connaissances.

En matière de **développement d'outils d'aide à la décision**, notre équipe a développé un instrument automatisé d'évaluation du risque d'épuisement des proches aidants, que nous avons nommé « J'aide, je m'évalue ». Cet instrument, auto-administré, se présente sous la forme d'un questionnaire composé de 32 variables, correspondant aux facteurs de risque d'épuisement identifiés au décours des études que nous avons menées. L'analyse des réponses permet de générer automatiquement un score global de risque d'épuisement, variant de 0 (risque très faible) à 100 (risque élevé), d'une part ; d'autre part, des sous-scores correspondant aux différentes dimensions identifiées comme étant en cause dans la survenue de l'épuisement (santé physique, psychique, qualité de vie, relations sociales, temps passé à l'aide, etc.). Un groupe de travail, composé de professionnels et de proches aidants, a permis de formuler des textes d'interprétation de chacun de ces résultats, sous la forme de constats et de conseils. L'instrument a été développé informatiquement. Il est actuellement évalué auprès d'une cohorte de professionnels et d'aidants volontaires. Les retours encourageants, notamment en matière d'aide à la médiation professionnel-aidant, nous permettent d'envisager sa mise en ligne, sous un format libre d'accès et gratuit, courant novembre 2022.

En matière d'**évaluation du dispositif pilote de répit**, composé d'une Equipe mobile et d'une Maison de répit, l'étude AIME3 est en cours. Une analyse sera réalisée fin 2022 et permettra de tirer des premières conclusions quant à son efficacité.

« Les familles en témoignent et leurs paroles sont à ce titre très explicites. Considérer l'aidant selon ses besoins et ses aspirations est une ligne de conduite indispensable pour accompagner ces proches alliés que constituent les aidants. Les Maisons de Répit en sont des outils précieux qui méritent d'être développées pour conforter les réponses proposées aux aidants. » Sophie CLUZEL, Secrétaire d'État chargée des Personnes handicapées, 2017-2022, préface de l'ouvrage « Vers des soins de répit ».

Publication

1. **Vers des soins de répit - Accompagner les proches aidants.** Ouvrage collectif sous la direction d'Henri de Rohan-Chabot, Délégué général de la Fondation France Répit. Préface de Sophie Cluzel, Secrétaire d'Etat auprès du Premier ministre, chargée des Personnes handicapées. Disponible à la vente en ligne sur HelloAsso.



SYSBIO-CF

TECHNOLOGIES MULTI-OMIQUES, BIOLOGIE DES SYSTÈMES ET IA POUR L'IDENTIFICATION DE NOUVELLES THÉRAPIES DANS LA MUCOVISCIDOSE

PARIS : Fondation Maladies Rares - Institut Necker Enfants Malades - Mines-ParisTech. SOUTENU DEPUIS 2022



Pr Véronique STOVEN & Pr Isabelle SERMET-GAUDELUS

CONTEXTE

La mucoviscidose (Cystic Fibrosis, CF) est une maladie monogénique due à des mutations dans le gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) codant pour la protéine CFTR, canal à ions chlorures. Cependant, la perte de cette fonction ne peut expliquer l'ensemble du tableau clinique de la maladie, dont l'inflammation en l'absence d'infection, le stress oxydant, ou les retards de réparation de l'épithélium respiratoire (1,2,3,4,5), suggérant que CFTR participe à la régulation d'autres fonctions cellulaires.

Les thérapies par les « modulateurs de CFTR » visant à améliorer la maturation et la fonction de la protéine CFTR mutée apportent un réel bénéfice clinique, mais 15% des patients porteurs de mutations non-sens ou faux sens ne sont pas éligibles à ces traitements (6). Il est donc important d'identifier de nouvelles thérapies indépendantes de CFTR pour ces patients.

Notre hypothèse que CFTR appartient à un réseau de protéines dont le fonctionnement serait perturbé par l'absence de CFTR, et que ces dérégulations expliqueraient une partie des phénotypes cellulaires de la maladie. L'identification de nouvelles cibles thérapeutiques dans ce réseau dérégulé permettrait de définir de nouvelles stratégies thérapeutiques, utilisables pour tous les patients, en combinaison avec les modulateurs de CFTR, ou pas.

OBJECTIFS

L'objectif est (i) de construire le réseau protéique récapitulant les dérégulations cellulaires entraînées par l'absence de CFTR, analyser sa topologie (ii) simuler son fonctionnement, afin (iii) d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques qui seront (iv) validées biologiquement. Des médicaments associés seront identifiés, en favorisant opportunités de repositionnement.

RÉSULTATS

Nous avons effectué une méta-analyse sur un ensemble de données transcriptomiques concernant des cellules épithéliales respiratoires de type CF et des cellules saines contrôles, et d'identifié des voies de signalisation dérégulées dans les cellules CF.

Ces voies partageaient certains gènes, ce qui a permis de les connecter au sein d'un réseau, grâce à des technologies de biologie des systèmes. CFTR ne faisait pas partie de ce réseau, car il n'appartient pas aux voies dérégulées détectées, compte tenu de leur définition dans les bases de données de voies. Nous avons utilisé le CyFi-Map, une qui fournit une carte des protéines qui interagissent directement avec le CFTR (Interactions Protéine-Protéine, PPI), et identifié 8 interacteurs de CFTR dans le réseau. Cela a confirmé que les partenaires protéiques directs de CFTR seraient perturbés dans la mucoviscidose et propageraient des dérégulations moléculaires dans le réseau, atteignant 35 « nœuds de sortie » (principalement des facteurs de transcription) dont l'activation serait responsable des phénotypes cellulaires de la mucoviscidose. Les phénotypes associés à ces 35 nœuds se sont révélés cohérents avec la physiopathologie de la mucoviscidose, notamment l'inflammation, les défauts de l'immunité innée ou les défauts du cytosquelette d'actine.

L'analyse topologique du réseau a permis d'identifier des protéines correspondant des « nœuds sources » et des « nœuds hub », dont l'inhibition limiterait la propagation des dérégulations dans le réseau et atténuerait les phénotypes CF. Certaines de ces protéines mériteraient une évaluation expérimentale plus approfondie, car des modulateurs pharmacologiques ou des médicaments commercialisés sont disponibles pour elles. Elles incluent SYK et PLCB1/3 et PI3KCA. Ces résultats ont conduit à la rédaction d'un article scientifique actuellement soumis pour publication dans un journal, et disponible sur BioRxiv (7).

Publications

1. Roesch EA *et al*, **Pediatr Pulmonol.** 2018 Nov ; 53(S3):S30-S50.
2. Dickerhof N *et al*, **Free Radic Biol Med.** 2017 Dec ; 113:236-243.
3. Schiller KR *et al*, **Am. J. Physiol.** 2010, 299, C912-C921.
4. Bardin *et al*, **Eur J Med Chem.** 2021 Mar 5 ; 213:113195.
5. **From CFTR to a CF signalling network: a systems biology approach to study Cystic Fibrosis.** Matthieu Najm, *et al*, bioRxiv ; doi:10.1101/2023.11.15.567166.





STRONG

SARCOPENIA TREATMENT BASED ON GDF5

PARIS : Association Institut de Myologie
SOUTENU DEPUIS 2023

France PIETRI-ROUXEL

CONTEXTE

L'une des préoccupations majeures du système de santé publique est le nombre croissant de personnes souffrant de sarcopénie. La sarcopénie est une maladie musculaire complexe liée à l'âge qui affecte entre 10 à 16% des personnes âgées de plus de 65 ans et qui peut conduire à terme à une diminution de plus de 30% de la masse musculaire initiale. Cette maladie est à l'origine d'une détérioration générale de la condition physique qui se traduit par un risque accru de chutes, un allongement de la durée d'hospitalisation, une perte d'autonomie et entraîne inévitablement une augmentation du taux de morbidité et de mortalité. Malgré la multitude d'études visant à comprendre les mécanismes physiologiques qui sous-tendent cette pathologie, ils restent encore mal compris et à ce jour, sans traitement pharmacologique.

Notre équipe s'est intéressée à la protéine GDF5 qui a été décrite comme cruciale pour le maintien de la masse musculaire dans une situation où le muscle est dénervé. Après avoir décrypté un des mécanismes moléculaires régulant l'expression du GDF5, nous avons démontré le potentiel thérapeutique de cette protéine dans la préservation de la masse et la force musculaires chez la souris âgée.

Nous développons aujourd'hui cette approche à visée thérapeutique pour contrecarrer la perte de masse et de fonction musculaires dans la sarcopénie. Pour cela, nous avons produit, à partir d'une synthèse chimique, la séquence humaine de la protéine GDF5 modifiée (hGDF5-P) afin d'optimiser sa stabilité et son efficacité sur la masse et la fonction musculaires.

OBJECTIFS

1. Etude des différentes voies d'administration du hGDF5-P chez la souris âgée immobilisée

Nous évaluerons l'effet du hGDF5-P administré par voie locale (intra-musculaire) ou systémique (sous-cutanée) chez la souris âgée dans un contexte d'atrophie musculaire induite par l'immobilisation. Une quantification de la masse et de la fonction musculaires dans les muscles traités nous permettra d'apprécier l'effet potentiel bénéfique du hGDF5-P.

2. Détermination la dose efficace optimale du hGDF5-P

L'étude de doses nous permettra de déterminer la dose la plus efficace de hGDF5-P. Elle sera réalisée sur une cohorte de 132 souris âgées mâles et femelles. Cinq doses seront testées et le traitement sera de 4 mois. Les six groupes seront suivis régulièrement pour évaluer une potentielle toxicité du traitement mais également pour le suivi du poids corporel et de la fonction musculaire. A la fin du traitement, nous quantifierons la masse et la fonction musculaires des souris traitées.

RÉSULTATS

1. Mise en place du protocole d'immobilisation

La patte antérieure de souris a été immobilisée grâce à une technique de velcro pendant 10 jours et nous avons pu quantifier une diminution significative de la masse des muscle *Tibialis Anterior*, *Gastrocnemius* et *Extensor Digitorum Longus*. Après 10 jours d'immobilisation, le membre a été libéré pendant 14 jours afin d'évaluer l'effet du hGDF5-P sur la récupération de la masse et de la force musculaires. Les données sont en cours d'analyse. Ce protocole sera reproduit sur des souris âgées, puis servira à l'évaluation des voies d'administration du hGDF5-P (objectif 1).

2. Détermination la dose efficace optimale du hGDF5-P

L'étude de dose a été menée avec une première cohorte exclusivement de souris femelles âgées. Cette étude est achevée et les évaluations fonctionnelles et moléculaires sont en cours de réalisation. L'étude de dose avec la cohorte de souris âgées mâles vient de commencer.

Publications

1. C. Novello*, K. Kobon, V. Randrianarison-Huetz, P. Maire, F. Pietri-Rouxel, S. Falcone*,† and Athanassia Sotiropoulos † *Cells* **2023**, 12(23), 2673; <https://doi.org/10.3390/cells12232673>.
2. Taglietti V, Kefi K, Rivera L, Bergiers O, Cardone N, Couplier F, Gioftsidi S, Drayton-Libotte B, Hou C, Authier FJ, Pietri-Rouxel F, Robert M, Bremond-Gignac D, Bruno C, Fiorillo C, Malfatti E, Lafuste P, Turet L, Relaix F. *Sci Transl Med*. 2023 Mar ; 15(685):eadd5275. doi: 10.1126/scitranslmed.add5275. Epub 2023 Mar 1. PMID: 36857434.
3. Boulinguez A, Duhem C, Mayeuf-Louchart A, Pourcet B, Sebti Y, Kondratska K, Monteil V, Delhay S, Thorel O, Beauchamp J, Hebras A, Gimenez M, Couvelaere M, Zecchin M, Ferri L, Prevarskaya N, Forand A, Gentil C, Dhana J, Piétri-Rouxel F, Bastide B, Staels B, Duez H, Lancel S. *JCI Insight*. 2022 Sep 8;7(17):e153584. doi: 10.1172/jci.insight.153584.PMID: 35917173.
4. V. Taglietti, K. Kefi, I. Bronisz Budzynska, B. Mirciloglu, M. Rodrigues, N. Cardone, F. Couplier, B. Periou, C. Gentil, M. Goddard, F.J. Authier, F. Pietri Rouxel, E. Malfatti, P. Lafuste, L. Turet and F. Relaix. *Acta Neuropathol Commun*. 2022 Apr 25;10(1):60. doi: 10.1186/s40478-022-01355-2.
5. A. Vergnol, M. Traoré, F. Pietri-Rouxel* and S. Falcone*. *Front. Cell Dev. Biol*. 06 April 2022. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.880441>.



INFECTIOLOGIE



VIR-OH

PERTINENCE D'UN PRÉLÈVEMENT VIRAL POSITIF EN RÉANIMATION

PARIS : APHP - Institut PAOLI CALMETTES
SOUTENU DEPUIS 2018

Pr Elie AZOULAY, CHU Saint-Louis
Dr Djamel MOKART, Institut Paoli Calmettes

CONTEXTE

Comment interpréter un résultat viral positif dans les voies aériennes supérieures des patients d'hématologie admis en réanimation.

Les tests diagnostiques non invasifs permettent le diagnostic précoce et parfois le traitement d'infection virale chez les malades traités pour hémopathie maligne.

OBJECTIFS

Évaluer la pertinence clinique de la positivité d'une PCR virale sur un écouvillon nasal chez des patients d'hématologie admis en réanimation.

MÉTHODES

Parmi les 1 011 patients atteints d'hémopathies malignes et admis dans les 17 services de réanimation, un écouvillon nasal a pu être effectué à l'admission en réanimation et congelé chez 747 patients. Une PCR multiplex a été effectuée et ses résultats ont été corrélés avec la mortalité.

RÉSULTATS DE LA PHASE 1

Parmi les 747 patients, un virus a été retrouvé chez 21.3% d'entre eux (56.4% rhinovirus/enterovirus et 30.7% influenza/parainfluenza [PIV]/respiratory syncytial virus [RSV]).

La positivité virale était corrélée avec la présence d'une hémopathie lymphoïde, d'une greffe de moelle, d'une corticothérapie ou d'un autre immunosuppresseur, d'une insuffisance respiratoire aiguë (25.5% vs. 16.3%, $P = 0.004$), et aussi d'un décès en réanimation (28.9% vs. 19.3%, $P = 0.008$).

La mortalité en réanimation est de 26% et la mortalité hospitalière de 37%. L'association entre positivité virale et mortalité était vraie pour tous les virus, mais était plus forte pour influenza/PIV/RSV.

Chez les patients en insuffisance respiratoire aiguë, la positivité virale était associée à la mortalité en analyse multivariée (odds ratio, 2.07; 95% intervalle de confiance, 1.22-3.50).

CONCLUSION PRÉLIMINAIRE

Il est fréquent de retrouver un virus par PCR multiplex dans les voies aériennes des patients d'hématologie admis en réa. En cas d'insuffisance respiratoire aiguë, cela est associé à une mortalité accrue. Ces résultats laissent entrevoir une possibilité de stratification du risque de mortalité par rapport à une PCR virale positive.

RÉSULTATS ATTENDUS DE LA PHASE 2

La phase 2 se fera sur 778 patients afin de valider la prévalence des évènements et l'association d'une PCR positive à la mortalité.

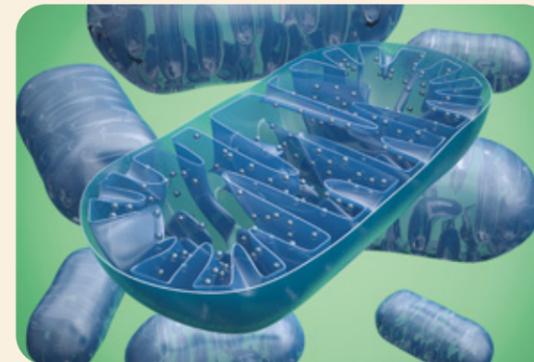
COMMENTAIRES & CONCLUSION PRÉLIMINAIRE

Un examen simple et non-invasif permet d'identifier la présence d'un virus sur un écouvillon nasal dans 20% des cas.

L'association de cette PCR avec la mortalité permet d'envisager une orientation des patients précocement vers la réanimation afin d'éviter une admission tardive dont on sait l'impact sur la mortalité.

Publication

Legoff J. *et al.* **Clinical Significance of Upper Airway Virus Detection in Critically Ill Hematology Patients.** *Am J Respir Crit Care Med.* 2019; 199(4):518-528.



MITOPHAGIE

IMPACT DE LA VENTILATION MÉCANIQUE SUR LES PNEUMOPATHIES AIGÜES

DIJON : INSERM - CHU Dijon
SOUTENU DEPUIS 2017

Pr Pierre Emmanuel CHARLES, Mathieu BLOT & Marine JACQUIER

CONTEXTE

Effets d'un traitement par cellules souches mésenchymateuses stromales au cours de la pneumonie acquise sous ventilation chez le lapin.

Au cours des pneumonies, une réponse dérégulée de l'hôte est susceptible d'entraîner des défaillances d'organes et immunitaires. Les cellules souches mésenchymateuses stromales (CSMs) pourraient contribuer à la résolution de ces dysfonctions dans des modèles précliniques de pneumonie communautaire (e.g., pneumonie à pneumocoque). Leur intérêt au cours des pneumonies nosocomiales reste incertain. La pneumonie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) est la forme de pneumonie nosocomiale la plus sévère, favorisée par des altérations immunitaires (e.g., post infectieuses) combinées aux effets délétères de la ventilation mécanique. Nous faisons l'hypothèse que les CSMs pourraient aussi atténuer la gravité des PAVM.

OBJECTIFS

L'objectif était d'évaluer l'effet d'une injection intraveineuse de CSMs humaines (3x10⁶ CSMs/kg), issues du cordon fœtal (gelée de Wharton), dans un modèle préclinique de PAVM à *Enterobacter aerogenes* chez le lapin. Les animaux (n = 10 / groupe) étaient soumis à une double agression (injection de LPS, mimant un premier sepsis, combinée à la ventilation mécanique (VM) pendant 24 heures), puis une inoculation intratrachéale d'*Enterobacter a.* (10 log CFU) et autopsiés à 48 heures.

Dans le 1^{er} set d'expérience, les animaux étaient randomisés pour recevoir une injection de CSMs ou du NaCl à 4 heures de l'inoculation.

Dans le 2^{ème} set, l'expérience était renouvelée mais tous les animaux étaient traités par un antibiotique, le céfépime (75 mg/kg).

Étaient évalués la clairance bactérienne pulmonaire (critère de jugement principal) et systémique (sang, foie, rate), la survie, la sévérité macroscopique pulmonaire, la réponse inflammatoire pulmonaire et systémique, et certaines altérations immunitaires.

RÉSULTATS

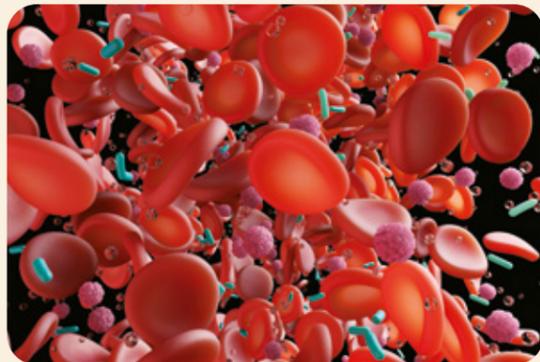
Les animaux traités par CSMs seules, en comparaison à ceux traités par NaCl, avaient des concentrations bactériennes pulmonaires non significativement différentes (6,7 [IQR 5,6-7,6] vs. 6,1 [IQR 5,7-6,8] Log₁₀ CFU/mL, $p = 0,37$). De même, les concentrations bactériennes systémiques, la survie (80% vs 90%, $p = 0,46$), le score macroscopique d'atteinte pulmonaire, les concentrations pulmonaires et systémiques de cytokines inflammatoires (IL-6, MCP-1), l'infiltration alvéolaire neutrophilique étaient comparables.

En revanche, les animaux traités par CSMs + céfépime, en comparaison à ceux traités par céfépime seul, avaient des concentrations bactériennes pulmonaires significativement plus faibles (5,2 [5,0-5,6] vs. 5,5 [5,2-7,7] Log₁₀ CFU/mL, $p = 0,049$), mais également spléniques (2,7 vs. 3,3 Log₁₀ CFU/mL, $p = 0,051$), une meilleure survie (100% vs 70%, $p = 0,067$) ainsi que des concentrations pulmonaires d'IL-6 significativement inférieures (6,8 [IQR 3,1-21,2] vs 23,4 [IQR 8,8-33,7] ng/ml, $p=0,037$). L'infiltration alvéolaire neutrophilique et les concentrations d'IL-6 et MCP1 systémiques ne différaient pas entre les 2 groupes.

Dans les 2 sets d'expériences, les CSMs ne permettaient pas de restaurer la capacité des monocytes à sécréter du TNF- α en réponse à une stimulation ex-vivo par le LPS (tolérance à l'endotoxine).

Publications

- Blot M, *et al.* **Adverse Mechanical Ventilation and Pneumococcal Pneumonia Induce Immune and Mitochondrial Dysfunctions Mitigated by Mesenchymal Stem Cells in Rabbits.** *Anesthesiology.* 2022 Feb 1 ; 136(2):293-313.
- Godon J, *et al.* **Pneumotoxemia study group. Pneumococcal pneumonia and endotoxemia: An experimental and clinical reappraisal.** *Eur J Clin Invest.* 2023 Aug 29 ; e14077.
- Blot M, *et al.* **CXCL10 could drive longer duration of mechanical ventilation during COVID-19 ARDS.** *Crit Care.* 2020 Nov 2 ; 24(11):632.



PLAQSIS

RÔLE DES PLAQUETTES SANGUINES À LA PHASE AIGÛE DU SEPSIS

📍 BORDEAUX : CHU Bordeaux - INSERM
SOUTENU DEPUIS 2017

Dr Antoine DEWITTE

CONTEXTE

Le sepsis est une pathologie infectieuse grave qui touche environ 50 millions de personnes dans le monde chaque année, entraînant le décès de 11 millions d'entre elles.

En France, le sepsis est la principale cause de décès hospitaliers, avec 57 000 décès par an. Le coût direct hospitalier par cas de sepsis est d'environ 16 000 euros, et les coûts indirects pour la société sont importants en raison des séquelles physiques, cognitives et sociales à long terme. En 2017, l'OMS a adopté une résolution reconnaissant le sepsis comme une priorité mondiale en matière de santé publique.

Actuellement défini comme une dysfonction d'organe menaçant le pronostic vital due à une réponse inadaptée de l'hôte à une infection, le sepsis reste mal connu et mal compris au niveau mécanistique. Bien que des progrès aient été réalisés dans la compréhension de son origine et de sa physiopathologie, les options thérapeutiques spécifiques restent limitées.

Les plaquettes, longtemps considérées comme des effecteurs du système de coagulation, sont maintenant reconnues comme des acteurs de la réponse immunitaire. Elles contiennent diverses molécules inflammatoires et expriment des récepteurs d'implication immunitaire. Elles sont à l'interface avec de nombreuses cellules de l'immunité innée et adaptative. La thrombocytopenie est un marqueur classique de la gravité du sepsis.

OBJECTIFS

PLAQSIS est une étude translationnelle qui explore la physiopathologie du sepsis. Elle se focalise sur les phénomènes d'immunothrombose qui sont à l'interface entre coagulation et immunité, et dans lesquels les plaquettes jouent un rôle crucial. Ses objectifs sont de mieux comprendre comment l'immunothrombose contribue à la dérégulation de la réponse de l'hôte à une infection, à l'atteinte microcirculatoire du sepsis et à la formation de dommages tissulaires. Ils incluent la compréhension des réponses inflammatoires, la régulation par le patient infecté, la dérégulation conduisant à des défaillances d'organes, le diagnostic et la stratification des patients avec une réponse immunitaire dérégulée, et la compréhension des conséquences immunitaires post-sepsis.

RÉSULTATS

Nos résultats préliminaires confirment une majoration de marqueurs d'immunothrombose dont les Neutrophils Extracellular Traps (NETs) dans le sepsis, avec une activité DNase globale régulatrice qui semble conservée. On observe cependant un déséquilibre entre NETose et activité DNase dans le sepsis avec une augmentation de la DNase1L3 et une diminution de la DNase1. La répartition des cellules myéloïdes est impactée par le sepsis avec une réduction des marqueurs d'activation monocyttaire (CD86 et HLA-DR) identifiée de façon très précoce. Les pDC, producteurs classiques de DNase1L3, sont diminués chez les patients en choc septique. Nous nous sommes également intéressés au rôle de FGF23 comme régulateur potentiel de l'expression de la DNase1 par les cellules épithéliales, notamment tubulaire rénale. Le FGF23 est très augmenté chez nos patients septiques, particulièrement en cas d'une insuffisance rénale aigüe, ce qui pourrait contribuer à la réduction de l'activité DNase, une augmentation des NETs et à l'immunothrombose.

WHAT'S NEW ?

Les inclusions de patients dans la partie clinique de l'étude arrivent à leur fin (clôture en 2024). Nos résultats préliminaires, qui doivent être confirmés sur l'ensemble de la cohorte, soulignent l'importance des mécanismes d'immunothrombose dans le sepsis.

Publications

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. **The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)**. JAMA. 2016;315(8):801-10.
2. Cavallion JM, Singer M, Skirecki T. **Sepsis therapies: learning from 30 years of failure of translational research to propose new leads**. EMBO Mol Med. 2020;12(4):e10128.
3. Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, Machado FR, Schachter RD, Finfer S. **Recognizing Sepsis as a Global Health Priority - A WHO Resolution**. N Engl J Med. 2017;377(5):414-7.
4. Dewitte A, Lepreux S, Villeneuve J, Rigotherier C, Combe C, Duattara A, et al. **Blood platelets and sepsis pathophysiology: A new therapeutic prospect in critically ill patients?** Ann Intensive Care. 2017;7(1):115.
5. Martinod K, Deppermann C. **Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease**. Platelets. 2021;32(3):314-24.



MARVIN

UNE APPLICATION CONNECTÉE POUR AMÉLIORER LES SOINS DU VIH

📍 PARIS : Hôpital Saint-Antoine - Fondation de l'APHP
SOUTENU DEPUIS 2018

Bertrand LÉBOUCHÉ, Kim ENGLER, David LESSARD, Hayette ROUGIER, Serge VICENTE, Yuanchao MA, Dominic CHU, Tibor SCHUSTER, Tarek HIJAL, Karine LACOMBE

CONTEXTE

Les mesures I-Score : outils cliniques et de recherche validés par les patients et professionnels de la santé pour identifier les barrières à une bonne prise des antirétroviraux et favoriser leur prise en charge.

L'adhésion aux antirétroviraux (ARV) demeure une problématique à échelle mondiale. Près de 40% des personnes vivant avec le VIH (PVVIH) n'aurait pas une adhésion optimale aux ARV et environ 30% pourrait avoir une charge virale basse mais détectable. Chez les professionnels de la santé du VIH, l'identification et la prise en charge clinique des troubles d'adhésion et de leurs origines peuvent être limitées. L'atteinte du I=I (indétectable = intransmissible) et l'éradication de la pandémie dépendent d'une adhésion adéquate aux ARV de l'ensemble des PVVIH. Un outil validé qui permettrait de capter de façon efficiente, systématique, et complète les obstacles rapportés par les patients à une bonne prise de leurs ARV pourrait servir à améliorer la connaissance sur ces facteurs, faciliter la prise en charge des problèmes connexes, et même prévenir la non-adhésion.

OBJECTIFS

Notre équipe poursuit donc le développement de mesures auto-rapportées par les patients (patient-reported outcome measures ou PROMs) de barrières à l'adhésion (I-Score) (pubs 1-3) qui serviraient à la recherche et aux soins cliniques pour le VIH en France et au Canada. Les objectifs actuels de ce projet, toujours en expansion, sont les suivants :

- 1) Compléter de piloter la PROM I-Score à 7 énoncés ou I-Score-7) dans les soins VIH à Montréal (pub 4).
- 2) Implanter le I-Score-7 dans des sites parisiens en particulier le service des maladies Infectieuses à l'hôpital Saint-Antoine.
- 3) Finaliser la validation initiale du I-Score-7 et générer un manuscrit sur l'ensemble des preuves psychométriques accumulées à ce jour.
- 4) Administrer le I-Score-7 auprès d'un échantillon plus grand et diversifié de PVVIH au Canada pour l'évaluer davantage.
- 5) Analyser l'ensemble des autres énoncés produits pour le I-Score (ex : pour créer une version longue de l'outil) (pub 1).
- 6) Synthétiser les recommandations cliniques VIH applicables aux pays développés liées à l'adhésion aux antirétroviraux et ses défis.
- 7) Identifier les PROMs utilisées dans les soins VIH à l'échelle globale.
- 8) Identifier avec les PVVIH et leurs soignants les PROMs à privilégier dans les soins VIH à Montréal et à Paris (Core Outcome Set).
- 9) Synthétiser les recommandations cliniques VIH applicables aux pays développés liées à l'usage de PROMs dans les soins.

WHAT'S NEW ?

- 1) Essai qui pilote le I-Score-7 dans les soins VIH à Montréal (CUSM) (pub 4) : recrutement terminé ; collecte de donnée à compléter cet hiver 2024 ; manuscrit en préparation sur une étude de cas sera soumis déc 2023 ; 2 manuscrits des résultats du pilote à Montréal sont prévus d'ici décembre 2024.
- 2) Implantation et évaluation du I-Score-7 à Saint-Antoine prévu en 2024 (Paris, K Lacombe) grâce à MSD Avenir.
- 3) Analyses de base pour la validation du I-Score-7 complétées ; rédaction du manuscrit en cours et soumission pour publication prévue en hiver 2024.
- 4) Protocole à rédiger en hiver 2024 pour valider davantage le I-Score-7 auprès de populations vulnérables de PVVIH au Canada et avec des données de renouvellement dans les pharmacies.
- 5) Plan d'analyse préparé pour la validation des autres énoncés retenus pour le I-Score à mettre en œuvre en hiver 2024.
- 6) Résultats de la synthèse de recommandations cliniques liées à l'adhésion aux ARV et de ses défis (scoping review) en cours de rédaction ; soumission du manuscrit pour publication prévu en hiver 2024.
- 7) Manuscrit sur les PROMs utilisées dans les soins VIH (scoping review) accepté pour publication dans HIV Medicine (pub 5).
- 8) Étude de développement du Core Outcome Set entre Montréal et Paris approuvée par le comité d'éthique ; soumission du protocole pour publication prévue en hiver 2024.
- 9) Protocole de la synthèse des recommandations cliniques sur l'usage des PROMs en cours de rédaction ; début du projet prévu en hiver 2024.

Publications

1. Engler K, Toupin I, Vicente S, Ahmed S, Lebouché B. **A review of HIV-specific patient-reported measures of perceived barriers to antiretroviral therapy adherence: what themes are they covering?** Journal of Patient-Reported Outcomes. 2019;3:37.
2. Engler K, Lénárt A, Lessard D, Toupin I, Lebouché B. **Barriers to antiretroviral therapy adherence in developed countries: a qualitative synthesis to develop a conceptual framework for a new patient-reported outcome measure**. AIDS Care. 2018;30(sup1):17-28.
3. Engler K, Vicente S, Mate KKV, Lessard D, Ahmed S, Lebouché B. **Content validation of a new measure of patient-reported barriers to antiretroviral therapy adherence, the I-Score: results from a Delphi study**. Journal of Patient-Reported Outcomes. 2022;26:6(1):28.
4. Engler K, Vicente S, Ma Y, Hijal T, Cox J, Ahmed S, Klein M, Achiche S, Pai NP, de Pokomandy A, Lacombe K, Lebouché B. **Implementation of an electronic patient-reported measure of barriers to antiretroviral therapy adherence with the Opal patient portal: Protocol for a mixed method type 3 hybrid pilot study at a large Montreal HIV clinic**. PLoS ONE. 2021;16(12):e0261006.
5. Engler K, Avallone F, Cadri A, Lebouché B. (accepted). **Patient-reported outcome measures in adult HIV care: A rapid scoping review of targeted outcomes and instruments used**. HIV Medicine (Manuscript ID# HIV-RA-05-2023-6226-R2, accepted November 20, 2023). DOI:10.1111/hiv.13599.





ENSEIGNEMENT PAR LA RECHERCHE

NOUVELLES APPROCHES DANS LE DESIGN
D'ANTIBIOTIQUES ANTI-MYCOBACTÉRIENS

PARIS : Learning Planet Institute - Université de Paris
SOUTENU DEPUIS 2018

Ariel B. LINDNER, Jake WINTERMUTE, Nadine BONGAERTS, Sophie GONTIER, Ayak ABUKAR, Anshu BHARDWAJ
INSERM U1284, Center for Research and Interdisciplinary,
Université Paris Cité

CONTEXTE

In response to emergent antibiotic resistance, new strategies are needed to enhance the effectiveness of existing antibiotics. Chemical genetics in the synthetic biology era offers new tools for long-standing challenges in antimicrobial drug discovery. With genetic modifications to targeted functional pathways, microbial strains can be sensitized to drugs of a particular mechanism.¹ High-throughput screening of these strains may then reveal new drugs that act specifically on the modified pathway. Recent successful applications of chemical genetics have produced novel drug scaffolds and helped to identify drug mechanisms in a variety of microbial pathogens.

OBJECTIFS

We have developed a synthetic biology platform for targeted drug screening with the power to scale to assay hundreds of metabolic drug targets in dozens of human pathogens. We engineer Target-Essential Surrogate *E. coli* (TESEC) strains, in which an essential metabolic pathway has been deleted and replaced with a pathogen-derived equivalent pathway. Drugs that inhibit the growth of TESEC strains, but not wild-type controls, must inhibit the activity, expression or maturation of the targeted pathway.

RÉSULTATS

In developing TESEC, we sought to create a flexible chemical-genetic assay able to accommodate many potential targets. We tested the modularity of our system by constructing and screening additional TESEC strains. We chose 4 enzymes required for amino acid biosynthesis and proposed as anti-mycobacterial drug targets: Asd, CysH, DapB and TrpD). For each target, we deleted the *E. coli* homolog and expressed the codon-optimized enzyme from *Mtb* in the standard TESEC vector. The resulting strains showed diverse dose-responses to target induction and unique induction optima. Following the strategy used for ALR, we selected high and low arabinose induction levels for differential screening.

We performed high-throughput screening of the Prestwick library in triplicate for all 5 targets and selected hit compounds causing differential growth ($OD_{HIGH} - OD_{LOW} > 0.1$) at significant levels (SSMD > 5).

Hits were identified for Asd and DapB. All hit compounds were small and hydrophilic relative to the set of known antibacterials annotated in the Prestwick library. This may reflect the role of the *E. coli* membrane as a selective barrier to activity in the TESEC assay. No hits were identified in the CysH and TrpD strains, which showed poor growth at all induction levels and high variance during screening. These results highlight the importance of precise control and low-burden heterologous expression for robust chemical-genetic drug discovery.

As with benazepril, we validated the hit compounds by creating chemical-genetic growth profiles varying both drug concentration and arabinose induction. Four of the five hit compounds produced characteristically diagonal growth profiles, confirming a relationship between target abundance and drug sensitivity. This relationship was also evident in single arabinose dose-response curves for selected drug levels in the micromolar range: arabinose induction of the TESEC strain, but not a wild-type control, significantly increased resistance to the hit compound. A fifth hit, diethylstilbestrol, showed no interaction with target expression in follow-up assays.

Two of the four confirmed hits have previously shown activity against whole-cell mycobacteria in the micromolar range: pentamidine (8) and bromhexine (9). Both drugs are administered through inhalation and show high bioavailability in the lung. Deoxycorticosterone has been shown to reduce mycobacterial growth within human macrophages. For each of these compounds, our results suggest a previously unknown metabolic anti-microbial mechanism of action. Riluzole has no demonstrated anti-mycobacterial activity to our knowledge, although it contains a trifluoromethoxy group rare in medicinal chemistry and found in many recent anti-TB clinical candidates including delamanid, pretomanid and, telacebec.

Of the five hit compounds, only pentamidine showed activity against *M. smegmatis* in the micromolar range. In contrast bromhexine, deoxycorticosterone and riluzole showed reproducible activity in the TESEC strain but not against *M. smegmatis*. This discrepancy may be due, in part, to membrane efflux activities present in wild-type cells but deleted in TESEC strains.

Publication

1. **Low-cost anti-mycobacterial drug discovery using engineered *E. coli*.** Bongaerts N, Edoo Z, Abukar AA, Song X, Sosa-Carrillo S, Haggenmueller S, Savigny J, Gontier S, Lindner AB*, Wintermute EH*. *Nat Commun.* 2022 Jul 7;13(1):3905. doi: 10.1038/s41467-022-31570-3.



INTRANZIGEANT

ÉTUDE INTÉGRÉE DE LA TRANSMISSION DU VIRUS ZIKA
POUR L'IDENTIFICATION DE MÉCANISMES GÉNÉTIQUES
ET DE NOUVELLES CIBLES ANTIVIRALES

PARIS : Institut Pasteur
SOUTENU DEPUIS 2022

Dr Louis LAMBRECHTS & Dr Xavier MONTAGUTELLI

CONTEXTE

Les arboviroses sont des maladies causées par des virus véhiculés par des moustiques qui posent un défi mondial avec plus de 400 millions d'infections par an. La mondialisation, l'urbanisation et le changement climatique favorisent l'expansion des arboviroses telles que la dengue, le chikungunya, et le Zika. Les moustiques urbains *Aedes*, présents même en France métropolitaine, transmettent ces virus, autrefois limités à des cycles sauvages entre animaux non humains et moustiques forestiers. L'émergence récente du Zika a provoqué des millions de cas avec des complications neurologiques et des malformations congénitales.

La prévention des arboviroses repose sur la lutte antivectorielle, mais la résistance aux insecticides et les défis logistiques compromettent son efficacité. L'absence de vaccins souligne l'urgence de stratégies novatrices. Cependant, la recherche est complexe en raison de la nature multifactorielle des arboviroses et de la difficulté à reproduire le cycle de transmission complet. La transmission épidémique implique l'agent pathogène, l'hôte humain et le moustique vecteur. Son efficacité dépend de l'infection du moustique lors d'un repas sanguin, de la multiplication virale dans le moustique et de la contamination d'un nouvel hôte lors d'une piqûre ultérieure. La variabilité génétique de ces trois partenaires influe sur la transmission épidémique.

Pour comprendre ces mécanismes, le projet INTRANZIGEANT est une étude génétique conjointe du virus, du moustique et de l'hôte mammifère dans des modèles expérimentaux. Il repose sur la collaboration entre Louis Lambrechts, spécialiste de la génétique des moustiques, et Xavier Montagutelli, expert en génétique de la souris.

OBJECTIFS

Le projet INTRANZIGEANT vise à identifier des combinaisons hôte-vecteur-virus favorables ou défavorables à la transmission du virus Zika. Le but ultime est de mieux comprendre les mécanismes de la transmission pour identifier des cibles permettant de la réduire.

Pour cela, nous tirons avantage de systèmes expérimentaux récemment établis pour étudier la dynamique de l'infection au virus Zika dans un modèle souris, chez le moustique *in vivo* et lors de la transmission virale de l'hôte mammifère vers le moustique ainsi que du moustique vers l'hôte mammifère.

RÉSULTATS

Notre premier objectif est d'élucider les déterminants génétiques viraux de la variation de transmissibilité du virus Zika. Nous avons préalablement identifié deux souches de virus présentant une grande différence de transmissibilité. Afin d'identifier les régions du génome viral responsables de cette différence, nous avons développé une approche de génétique inverse basée sur la construction de chimères entre ces deux souches virales pour introduire une à une les régions du génome de l'un des virus dans le fonds génétique de l'autre virus. Nous avons mesuré et comparé la transmissibilité au moustique des virus chimères à la suite d'un repas sanguin artificiel.

Ces expériences ont montré que l'efficacité de répllication *in vitro* et la transmissibilité *in vivo* entre les deux souches parentales sont gouvernées principalement par les gènes structuraux du virus (capside, membrane, enveloppe) et dans une moindre mesure par les gènes non-structuraux. En revanche, les régions non codantes du génome viral ne semblent pas impliquées.

Nous sommes actuellement en train de tester une deuxième génération de virus chimériques pour étudier l'effet de chaque gène viral un à un.

Publications

- Phengchat R, et al. **Differential intra-host infection kinetics in *Aedes aegypti* underlie superior transmissibility of African relative to Asian Zika virus.** *mSphere.* 2023 Nov 9:e0054523. doi: 10.1128/msphere.00545-23. PMID: 37943061.
- Lefèvre C, et al. **Zika viruses encode multiple upstream open reading frames in the 5' viral region with a role in neurotropism.** *bioRxiv.* Posted April 20, 2023. doi: 10.1101/112904.
- Lambrechts L. **Does arbovirus emergence in humans require adaptation to domestic mosquitoes?** *Curr Opin Virol.* 2023 Jun;60:101315. doi: 10.1016/j.coviro.2023.101315. Epub 2023 Mar 28. PMID: 36996522.





Hit Hidden HBV

TOWARDS HBV CURE: UNDERSTANDING HBVCC DNA PERSISTENCE AND EXPRESSION

LYON - MONTPELLIER : CNRS DR Occitanie-Est - INSERM - CIRI, Lyon - IGH, Université de Montpellier. SOUTENU DEPUIS 2023

Dr David DURANTEL, Dr Christine NEUVEUT & Dr Olivier CUVIER

CONTEXTE

Despite the existence of a very efficient and safe prophylactic vaccine against HBV (hepatitis B virus) infection, around 296 million people worldwide are yet chronic HBV carriers, of whom 25% could die of liver cirrhosis decompensation or hepatocellular carcinoma (HCC), if left untreated. Current treatments for chronic hepatitis B (CHB) patients are ineffective at completely clearing the virus. This is due to the inability of the treatments to eliminate the nuclear viral DNA episome, called cccDNA (i.e. covalently-closed-circular DNA). This long-lived cccDNA accounts for long-term persistence of infection and is responsible for the viral rebound after cessation of antiviral treatment with nucleoside analogues (i.e. standard-of-care in industrialized countries). Moreover, chronically infected patients suffer from a profound dysfunction of both intrahepatic innate immunity and adaptive HBV-specific T and B cells responses, which render them unable to efficiently fight viral infection by immunological means. To better achieve a functional cure in CHB patients, which is defined by a durable loss of viremia and antigenemia, as well as an immune response recovery, new therapeutic approaches targeting the viral persistence and maintenance of cccDNA are urgently needed. This will require a deeper understanding of the molecular mechanisms involved in cccDNA formation, maintenance, and transcriptional activity leading to the synthesis of HBV RNAs that are in turn crucial to maintain an active replication of the virus.

OBJECTIFS

Our objectives are to identify and in-depth study the role of viral and host proteins associated with HBV cccDNA and RNAs and reveal their roles in cccDNA formation, maintenance and transcriptional activity, as well as in HBV RNA biogenesis at large, using state-to-the-art and unbiased technologies, combined to AI-driven multi-bio-informatic analyses. Such advances will allow defining novel and most relevant therapeutic targets for future and improved antiviral strategies. To this end, 3 axes of research (with technological and biological coherences) were defined and aim at:

1. Identifying, and validating (overall validation) the role of host proteins associated with cccDNA and DNA- or RNA-intermediates of HBV replication;
2. Understanding the biology of HBV nuclear DNAs, with 3 different aspects, related to the role of viral/host proteins:
 - in cccDNA formation, maintenance, and transcriptional activity (with spatio-temporal level of analyses);

- in HBV DNA integration into host genome, leading to functional and mutational events causing hepatocellular carcinogenesis;
 - in escape mechanisms from DNA-induced innate immunity and viral intrinsic restriction systems;
- 3. Understanding the biology of HBV RNAs & its interplay with innate immune sensing, including 2 sub-aspects, related to the role of viral/host proteins:**
- in the biogenesis, splicing escape, stability/degradation escape and trafficking of HBV RNAs out of the nucleus;
 - in escape mechanisms from RNA-induced innate immunity and viral intrinsic restriction systems.

RÉSULTATS

After few months into the program, two high-value and unbiased technologies, namely PiCh-MS (i.e. Proteomics of Isolated Chromatin segments obtained by Mass-Spectrometry) and ChIRP-MS (i.e. Comprehensive Identification of RNA-binding Proteins by Mass Spectrometry), were respectively performed to identify host factors bound to HBV DNA and RNA replication intermediates.

PiCh-MS has been performed using HBV infected hepatoma cells. Mass spectrometry analysis identified 198 proteins that were enriched in the eluate from infected cells compared to noninfected cells (ongoing bioinformatic analyses of based on functions, numbers or intensities of the identified peptides), including the viral capsid (HBc) protein known to bind cccDNA as well as host factors known to bind cccDNA or viral proteins (such as HMGA1, SRSF10, SRPK1). We are currently investigating the impact of these factors on HBV replication using small interfering RNA screens of pooled siRNAs targeting the 198 selected candidates. To identified pathways relevant for HBV replication/ biology, we will also cross this analysis with proteome performed using human primary hepatocytes infected by HBV or inactivated HBV or with HBc and HBx interactomes.

In the case of the ChIRP-MS approach two sets of data were independently obtained from two cell culture models. The most statistically relevant hits were then crossed with previous data sets (HBV protein interactomes and proteome/phosphor-proteome in HBV-infected hepatocytes), and a list of 30 genes was selected for a first round of validation via a loss of function approach in several relevant cell culture models (PHH, dHepaRG, and dHuh7.5-hNTCP). Out of this, one leader candidate (druggable target) is already being investigated by using genetic and pharmacologic means. Interestingly this factor was also identified recently as playing an important role in hepatocellular carcinogenesis, thus linking virology and oncology.



LatentToxoDiag

A NEW DIAGNOSTIC TOOLBOX FOR SERODETECTION OF PERSISTENT PARASITES FOR BETTER MANAGEMENT OF TOXOPLASMOSIS IN HUMAN MEDICINE

GRENOBLE : INSERM - CNRS - CHU Grenoble Alpes - Université Grenoble Alpes SOUTENU DEPUIS 2022

Mohamed-Ali HAKIMI

CONTEXTE

Toxoplasma gondii, a significant parasitic threat, poses major health and economic challenges worldwide. Typically asymptomatic in healthy individuals, it can cause serious neurological and eye diseases, and other infections in those with compromised immune systems. Pregnant women with toxoplasmosis face risks of miscarriages, and it can lead to severe conditions like mental disabilities, hydrocephalus, and blindness in newborns. The acute phase involves rapidly multiplying tachyzoites, which the immune response transforms into bradyzoites, causing cysts in nervous and muscle tissues and leading to chronic toxoplasmosis. In weakened immune systems, these can revert to tachyzoites, resulting in severe illnesses like encephalitis in AIDS patients or recurrent eye issues. Moreover, bradyzoite persistence in the brain is associated with increased mental health disorder risks. Current serological tests, focused on IgG and IgM antibodies against tachyzoite antigens, are ineffective in detecting the cyst form. They overlook antigens from the dormant bradyzoite stage, key to chronic disease progression. The environmentally resistant sporozoite stage in oocysts is crucial in Toxoplasma's epidemiology, yet specific antigens for it are absent. Identifying these antigens could be crucial for serological diagnosis, helping estimate prevalence, transmission routes, and infection rates in populations.

OBJECTIFS

Our first goal is to monitor the level of antibodies against biomarkers that are only found in bradyzoites, specifically BCLA (Farhat et al. 2020; Dard C. et al. 2021) and BSM (Robert GM, et al. manuscript), – in serum samples from different groups: (i) patients with serological reactivation due to cancer treatments or after transplantation, (ii) patients with confirmed ocular toxoplasmosis and (iii) serum samples from the Lyon cohort with cases of maternal and congenital Toxoplasma infections. Secondly, we are investigating the possible association between chronic Toxoplasma infections and neuropsychiatric disorders such as schizophrenia and bipolar disorder using the BCLA/BSM markers. The sexual stages of Toxoplasma develop naturally in the intestine of cats, a developmental step that is essential for transmission to humans.

However, until now there has been no in vitro system for cultivating the sexual stages and producing oocysts in vitro without infecting cats. Our third goal is to develop a system that allows the sexual development of Toxoplasma to unfold *in vitro*.

RÉSULTATS

1. We have made a groundbreaking achievement by successfully producing the pre-gametes of Toxoplasma *in vitro* without infecting cats (Antunes *et al.* Nature, in press). This is a first step towards understanding the transmission of this zoonosis and identifying new serological markers that can be used to detect sexual stages and their final outcome oocysts.
2. We have identified a novel marker, the Bradyzoite Serological Marker (BSM - Robert GM, *et al.* manuscript), that in concert with BCLA (Dard C. *et al.* 2021) were presented as pivotal markers for tracking the progression of the infection. This new study of the team provides new reference standards for studying the pathophysiology of chronic toxoplasmosis in humans, particularly for cyst carriage, which has been poorly described so far.
3. We have begun testing the serum bank of the FondaMental Foundation on cohorts of patients with bipolar disorder or schizophrenia, with results expected in the course of 2024.

Publications

1. Dard C, Swale C, Brenier-Pinchart MP, Farhat DC, Bellini V, Robert MG, Cannella D, Pelloux H, Tardieux I and Hakimi MA. **BCLA is a Toxoplasma biomarker for high confidence serodetection of chronic infection and guidance for predictive medicine.** BMC Biol. 2021 Feb 9;19(1):25.
2. Farhat DC, Swale C, Dard C, Cannella D, Ortet P, Barakat M, Sindikubwabo F, Belmudes L, De Bock PJ, Couté Y, Bougdour A and Hakimi MA. **A MORC-driven transcriptional switch controls Toxoplasma developmental trajectories and sexual commitment.** Nature Microbiology. 2020 5(4):570-583.
3. Robert MG, Swale C, Bellini V, Cannella D, Braun L, Bougdour A, Corrao C, Belmudes L, Couté Y, Pelloux H, Brenier-Pinchart MP and Hakimi MA. **Serological Detection of Toxoplasmosis Dormancy by Cyst- and Bradyzoite-specific Biomarkers.** Manuscript in preparation.
4. Antunes AV, Shahinas M, Swale C, Farhat DC, Ramakrishnan C, Bruley C, Cannella D, Robert MG, Corrao C, Couté Y, Hehl AB, Bougdour A, Coppens I and Hakimi MA. **In vitro production of cat-restricted Toxoplasma pre-sexual stages.** Nature (in press).





PHENOMENON

DEFINITION OF SUB-PHENOTYPES OF PNEUMONIA BASED ON THE RESPIRATORY MICROBIOME COMPOSITION TO PREDICT MICROBIAL AND CLINICAL TREATMENT FAILURES

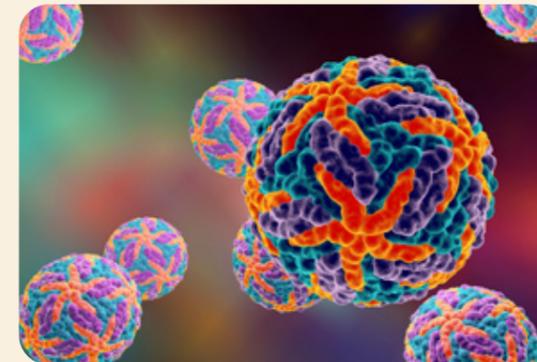
📍 NANTES : CHU Nantes - Université de Nantes - INSERM - APHP Bichat
SOUTENU DEPUIS 2023

servir à la personnalisation des traitements antibiotiques des patients atteints de pneumonies. Les consortia bactériens qui sont associés à la réponse au traitement seront également des cibles thérapeutiques qui pourraient être enrichis par probiotiques pour les consortia favorables, ou par thérapie ciblées non-antibiotiques (phages, anticorps) pour les consortia défavorables.

Dans un premier travail, nous avons analysé les données de séquençage de l'ARNr 16S provenant de 2 177 échantillons respiratoires prélevés chez 1 029 patients gravement malades (26,3 % de pneumonies) et 327 témoins sains provenant de 17 études publiées. Après l'harmonisation des données et la mise en commun des données individuelles des patients, nous avons identifié des signatures de microbiote associées aux pneumonies et à la ventilation mécanique (MV) prolongée (MV). Les signatures du microbiote pour les pneumonies et la MV prolongée ont été caractérisées par l'épuisement d'un groupe central de microbes typiques des échantillons respiratoires sains, et la signature des formes sévères a été distinguée par l'enrichissement de microbes respiratoires potentiellement pathogènes, y compris *Pseudomonas* et *Staphylococcus*. À l'aide de modèles d'apprentissage automatique, nous avons identifié des signatures cliniquement informatives, à trois et quatre facteurs, associées aux formes sévères, aux pneumonies et à la MV prolongée avec une précision passable (AUC 0,751, 0,72 et 0,727, respectivement). Nous avons validé ces signatures dans une cohorte prospective indépendante de 136 patients ventilés mécaniquement et avons constaté que les patients présentant une signature associée à une forme sévère, une pneumonie ou une MV prolongée avaient des temps plus longs pour réussir l'extubation que les patients dépourvus de ces signatures (rapport de risque 1,56 (IC à 95 % 1,07-2,27), 1,51 (IC à 95 % 1,02-2,23) et 1,50 (IC à 95 % 1,03-2,18), respectivement). Ainsi, nous avons défini et validé des signatures robustes du microbiome respiratoire associées aux pneumonies et à leurs formes sévères qui peuvent aider à identifier des cibles prometteuses pour la modulation thérapeutique du microbiome chez les patients gravement malades.

Publications

1. Montassier, E. *et al.* **Robust airway microbiome signatures in acute respiratory failure and hospital-acquired pneumonia.** Nat. Med. 29, 2793-2804 (2023).
2. Roquilly, A. *et al.* **Interferon gamma-1b for the prevention of hospital-acquired pneumonia in critically ill patients: a phase 2, placebo-controlled randomized clinical trial.** Intensive Care Med 1-15 (2023) doi:10.1007/s00134-023-07065-0.
3. Chaumette, T. *et al.* **Monocyte Signature Associated with Herpes Simplex Virus Reactivation and Neurological Recovery after Brain Injury.** Am J Resp Crit Care 206, 295-310 (2022).
4. Kreutmair, S. *et al.* **Preexisting comorbidities shape the immune response associated with severe COVID-19.** J Allergy Clin Immunol 150, 312-324 (2022).
5. Kreutmair, S. *et al.* **Distinct immunological signatures discriminate severe COVID-19 from non-SARS-CoV-2-driven critical pneumonia.** Immunity 54, 1578-1593.e5 (2021).



ARBOGEN

ADVANCING RESEARCH ON SEVERE DENGUE THROUGH LARGE-SCALE ARBOVIRUS GENOMIC TRACKING

📍 MARSEILLE : ANRS-MIE
SOUTENU DEPUIS 2023

Raphaëlle KLITTING

CONTEXTE

Faire progresser la recherche sur la dengue sévère grâce à un suivi génomique des arbovirus à grande échelle.

La dengue est la principale arbovirose en termes de santé publique, causant chaque année environ 390 millions de cas et 2 380 000 AVCI (années de vie corrigées du facteur invalidité) (1-2). Une part importante de ce bilan est imputable à la dengue sévère, l'une des formes les plus graves observées chez les patients infectés par le virus de la dengue (DENV). Plusieurs éléments suggèrent que les déterminants génétiques du virus jouent un rôle important dans la gravité de la dengue, notamment en influençant la pathogénicité du virus. Certains génotypes de la DENV (3) et à une échelle génétique inférieure, certaines mutations uniques (4) semblent être associés à une sévérité globalement accrue. À une échelle encore plus fine, il a été démontré que la diversité génétique intra-hôte du virus varie en fonction de la présentation clinique chez les patients atteints de dengue (5). La génétique du virus peut également affecter la gravité de la dengue de manière indirecte, en limitant l'efficacité des outils visant à contrôler la maladie, y compris le diagnostic, le traitement et la vaccination. Malgré la valeur des données de génomique virale pour étudier les déterminants de la sévérité de la dengue et informer les actions de santé publique, et bien que la capacité de séquençage ait augmenté avec la pandémie de Covid-19, la diversité génétique du virus de la dengue restent peu documentée. Moins de 14000 génomes complets de DENV sont actuellement accessibles au public, un nombre ridiculement bas comparé aux millions de génomes du SARS-CoV-2 produits au cours des dernières années. Cette lacune nuit gravement à la recherche sur le virus de la dengue et la maladie qu'il provoque et se traduit par un manque alarmant d'informations permettant de guider les stratégies de santé publique dans la lutte contre la dengue.

OBJECTIFS

Ce projet profitera de l'étendue unique des territoires français pour mettre en place une étude des déterminants de la sévérité de la dengue à une échelle sans précédent, en générant 1500 génomes DENV de haute qualité, collectés sur une grande partie de l'aire de répartition géographique du DENV, à partir de patients aux patrimoines génétiques variés.

Nous aborderons cette question sous deux angles :

1. Impact sur la pathogénie :

- Nous étudierons si les mutations dans le génome du virus de la dengue influencent la gravité de la maladie chez les patients atteints de la dengue (et si oui, lesquelles).

2. Impact sur les méthodes de contrôle de la maladie :

- Nous déterminerons si les mutations dans les lignées de DENV en circulation affectent l'efficacité des méthodes de diagnostic.
- Nous évaluerons le risque d'émergence de mutations conférant une résistance aux médicaments antiviraux qui seront bientôt utilisés.
- Nous évaluerons si les mutations dans les lignées de DENV en circulation permettent d'échapper à l'immunité induite par les vaccins.

RÉSULTATS ATTENDUS

Ce projet pourra aider à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et des marqueurs permettant d'anticiper la progression de la maladie, et ainsi de mieux orienter la prise en charge des patients. Aussi, l'identification de mutations pouvant limiter l'efficacité des tests diagnostiques, générer de la résistance aux antiviraux, ou de l'échappement aux vaccins, devrait permettre d'adapter rapidement les contre-mesures épidémiques et de réduire le fardeau dû à la dengue sévère. De façon plus générale, ce projet sera l'occasion de mettre en place le premier réseau français trans-territorial de partage de données de séquences d'arbovirus qui constituera une excellente ressource et au-delà de ce projet, servira de base pour la préparation à l'émergence virale.

Publications

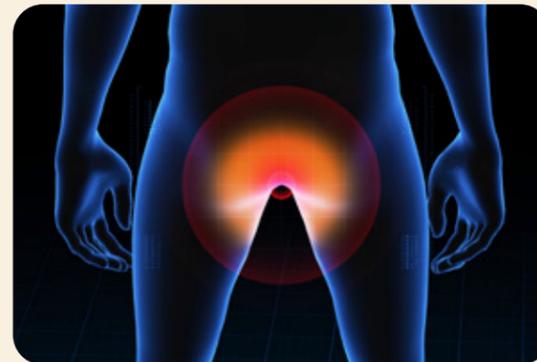
1. doi: 10.1038/nature12060
2. doi: 10.1093/cid/ciw589
3. doi: 10.3201/eid0907.030038
4. doi: 10.1080/22221751.2021.1899057
5. doi: 10.1111/1469-0691.12368



UNADISC

UNLOCKING BIOACTIVE NATURAL PRODUCTS DISCOVERY THROUGH COMPUTATIONAL AND SYNTHETIC BIOLOGY

PARIS : INSERM - Learning Planet Institute
SOUTENU DEPUIS 2023



AMÉTHYST

LA MÉTHYLATION DU GÉNOME DE L'HÔTE : UN OUTIL DE TRIAGE DANS LE DÉPISTAGE DU CANCER ANAL

PARIS : Fondation de l'APHP
SOUTENU DEPUIS 2023

Ariel LINDNER, Vincent LIBIS & Aude BERNHEIM

CONTEXTE

Accélérer la découverte de produits naturels bioactifs grâce à la biologie de synthèse et computationnelle.

Les métabolites secondaires produits par les micro-organismes constituent une source essentielle de molécules bioactives ayant des applications dans de nombreux domaines thérapeutiques, des maladies infectieuses au cancer. Malgré une énorme diversité inexplorée, la découverte de nouveaux métabolites bioactifs avec les approches standard s'est ralenti ces dernières années. Cependant, les technologies génomiques peuvent désormais être exploitées pour découvrir des métabolites secondaires en se concentrant sur les gènes responsables de leur synthèse, qui forment généralement des groupes de gènes biosynthétiques (BGC) au sein des génomes microbiens. Dans ce projet, nous utiliserons la science citoyenne, les avancées récentes en matière de séquençage et en bio-informatique pour trouver et classer par ordre de priorité les BGC qui codent pour des produits naturels inexplorés. Ensuite, nous combinerons des outils de biologie synthétique récemment développés dans notre équipe pour exprimer ces nouveaux BGC, cribler l'activité de leurs produits en termes d'activités antimicrobiennes et antivirales et permettre leur production à l'échelle.

OBJECTIFS

L'objectif principal de ce projet est de construire un pipeline allant des gènes jusqu'aux molécules, capable d'amener un nombre important de molécules antimicrobiennes et antivirales aux portes du développement clinique. Pour atteindre cet objectif, nous allons poursuivre trois axes:

1. Utiliser la **science citoyenne** et la **bioinformatique** pour **trouver rapidement de nouveaux BGC dans l'environnement** puis les **cloner à haut débit**, et en cribler les produits pour **découvrir rapidement de nouvelles molécules bioactives**.
2. **Augmenter le rendement de la production de métabolites bioactifs microbiens** en utilisant des organites synthétiques dans *E. coli* et *S. albus*.
3. Prédire, et tester des **molécules actives contre les virus humains**, à la suite de notre récente découverte de métabolites anti-phages agissant comme des antiviraux à spectre large. À cette fin, nous appliquerons notre plate-forme d'expression de BGCs spécifiquement sur ceux prédits comme étant capables de synthétiser de nouveaux antiviraux.

RÉSULTATS

1. Une collection de ~ 1 000 clones d'*E. coli* contenant des BGC dérégulés provenant de la collection de science citoyenne dynamique "Science à la pelle" (soit une augmentation de 2 000 % par rapport aux collections de BGC disponibles avec les technologies actuelles).
2. Caractérisation métabolomique d'un hôte hétérologue *S. albus* contenant la collection de BGC et détection précoce de l'activité antibiotique de leurs produits à partir d'extraits bruts contenant les nouveaux composés.
3. Caractérisation complète de 5 nouveaux composés en fonction de leur activité antibactérienne ou antifongique.
4. Production efficace de précurseurs de PKS via des organites synthétiques TEARS fonctionnels dans *E. coli*.
5. Souche *S. albus* permettant la production efficace de précurseurs PKS via des organites synthétiques TEARS fonctionnels en tant que châssis pour augmenter le rendement de nouvelles molécules bioactives synthétisées par PKS.
6. Mise en place d'une nouvelle approche bioinformatique pour prédire les BGC antiviraux dans les génomes séquencés.
7. Établissement de *S. albus* en tant que nouvel organisme modèle pour l'étude de la défense chimique chez les actinobactéries.
8. Méthodes expérimentales et analytiques adaptées à l'identification de composés anti-phages qui pourraient ensuite être exploités à des fins cliniques.

Publications

1. Burian J, Libis VK, Hernandez YA, Guerrero-Porras L, Ternei MA, Brady SF. **High-throughput retrieval of target sequences from complex clone libraries using CRISPRi**. Nat Biotechnol. 2023 May; 41(5):626-630. doi: 10.1038/s41587-022-01531-8.
2. Libis V, MacIntyre LW, Mehmood R, Guerrero L, Ternei MA, Antonovsky N, Burian J, Wang Z, Brady SF. **Multiplexed mobilization and expression of biosynthetic gene clusters**. Nat Commun. 2022 Sep 6; 13(1):5256. doi: 10.1038/s41467-022-32858-0. PMID: 36068239; PMCID: PMC9448795.
3. Georjon H, Bernheim A. **The highly diverse antiphage defence systems of bacteria**. Nat Rev Microbiol. 2023 Oct; 21(10):686-700. doi: 10.1038/s41579-023-00934-x.
4. Bernheim A, Millman A, Ofir G, Meitav G, Avraham C, Shomar H, Rosenberg MM, Tal N, Melamed S, Amitai G, Sorek R. **Prokaryotic vipers produce diverse antiviral molecules**. Nature. 2021 Jan; 589(7840):120-124. doi: 10.1038/s41586-020-2762-2.
5. Guo H, Ryan JC, Song X, Mallet A, Zhang M, Pabst V, Decrulle AL, Ejsmont P, Wintermute EH, Lindner AB. **Spatial engineering of E. coli with addressable phase-separated RNAs**. Cell. 2022 Sep 29; 185(20):3823-3837.e23. doi: 10.1016/j.cell.2022.09.016.
6. Bongarts N, Edo Z, Abukar AA, Song X, Sosa-Carrillo S, Haggenueller S, Savigny J, Gontier S, Lindner AB, Wintermute EH. **Low-cost anti-mycobacterial drug discovery using engineered E. coli**. Nat Commun. 2022 Jul 7; 13(1):3905. doi: 10.1038/s41467-022-31570-3.

Dr Valentine FERRÉ, Pr Laurent ABRAMOWITZ & Pr Jade GHOSN

CONTEXTE

Le cancer du canal anal est un cancer rare en population générale (0,35 pour 100 000 hommes et 0,57 pour 100 000 femmes) dont l'incidence est en augmentation dans les pays à moyen et haut niveaux de revenu (1). Dans la majorité des cas, le cancer anal est lié à HPV16. De récents travaux ont démontré l'importance de traiter les lésions anales précancéreuses de haut grade pour éviter les cancers anaux (2). La Société Nationale Française de Colo-Proctologie (SNFCP) est la première société savante à avoir émis, en Janvier 2023, des recommandations de dépistage du cancer anal en se basant sur les résultats de la méta-analyse de Clifford et al (3) dans trois populations présentant une incidence supérieure à 45 pour 100 000 : les HSH vivant avec le VIH âgés de plus de 30 ans, les femmes avec antécédents de lésions pré-cancéreuses ou de cancer de la vulve et les femmes transplantées d'organe solide depuis plus de 10 ans (4). Ces recommandations préconisent un dépistage primaire HPV16 et, en cas de positivité, la réalisation d'un frottis anal pour cytologie et un examen de proctologie classique. En cas de cytologie anormale, les patients seront orientés vers une consultation proctologique avec anoscopie haute résolution (AHR) (4). L'écueil important à la mise en place de ce dépistage est l'aggravation pressentie de l'engorgement des consultations pour examens d'AHR. Le développement d'outils de triage permettant de s'orienter vers l'AHR que les patients les plus à risque de dysplasies anales de haut grade est donc crucial. Les HPV à haut risque oncogène (HPV-HR) interagissent avec les enzymes cellulaires responsables de ces marques épigénétiques, les DNA méthyl-transférases. Lors de l'oncogenèse HPV-induite, des motifs de méthylation aberrants touchants des gènes impliqués dans la réponse immunitaire antivirale, antitumorale ou des gènes suppresseurs de tumeur est en faveur de la prolifération cellulaire inadaptée.

RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES

Certains marqueurs de méthylation ont été mis en évidence de façon spécifique comme associés aux lésions de haut grade et cancer anal sur des biopsies anales étudiées de façon transversale (5). Notre équipe est la première à avoir adapté l'analyse de ces marqueurs sur frottis anal (prélèvement non invasif, adapté au dépistage) dans la cohorte AIN3 incluant des patient(e)s avec un historique de lésions anales de haut grade. Nous avons ainsi démontré qu'un niveau de méthylation plus élevé à l'inclusion dans la cohorte était associé de manière significative avec l'évolution clinique des patient(e)s vers un cancer anal (Eurogin 2023, CROI 2023, IPVS 2023).

L'étude de ces marqueurs dans une population à risque de cancer anal mais asymptomatique est nécessaire pour étudier leur potentiel prédictif et leur possible utilisation dans les algorithmes de dépistage du cancer anal.

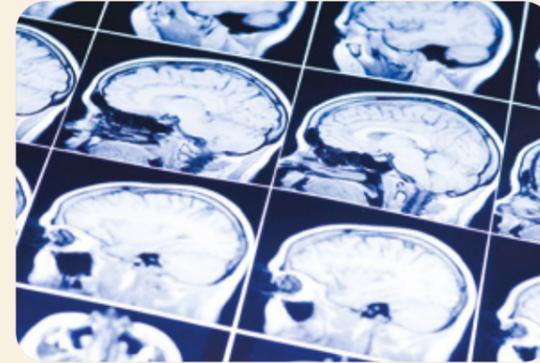
OBJECTIFS

L'étude AMethysT est une étude prospective monocentrique menée au sein de l'Hôpital Bichat-Claude Bernard (AP-HP) qui inclura 700 patients répondant aux critères de dépistage du cancer anal tels que définis par la SNFCP (4). Un suivi annuel sera proposé aux patient(e)s présentant une infection anale à HPV16 à l'inclusion, tandis que toute la cohorte sera reconvoquée de façon systématique pour un nouveau dépistage 3 ans après l'inclusion.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la valeur prédictive des marqueurs de méthylation du génome de l'hôte, ZNF582 et ASCL1, pour l'évolution de patients asymptomatiques vers des lésions anales de haut grade. Les objectifs secondaires sont d'estimer la prévalence, l'incidence et la persistance des infections HPV anales et des lésions anales dans les populations visées par les recommandations de la SNFCP, et d'étudier les déterminants associés à la persistance des infections HPV anales dans ces populations à risque. L'acceptabilité et la faisabilité des différentes étapes du programme de dépistage du cancer anal dans un centre tertiaire expert sur le sujet seront également évalués. Enfin, nous étudierons l'évolution longitudinale des marqueurs de méthylation.

Publications

1. Deshmukh AA, Damgacioglu H, Georges D, Sonawane K, Ferlay J, Bray F, et al. **Global burden of HPV-attributable squamous cell carcinoma of the anus in 2020, according to sex and HIV status: A worldwide analysis**. Int J Cancer. 2022 Aug 28.
2. Palefsky JM, Lee JY, Jay N, Goldstone SE, Darragh TM, Dunlevy HA, et al. **Treatment of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions to Prevent Anal Cancer**. N Engl J Med. 2022 Jun 16; 386(24):2273-82.
3. Clifford GM, Georges D, Shiels MS, Engels EA, Albuquerque A, Poynten IM, et al. **A meta-analysis of anal cancer incidence by risk group: Toward a unified anal cancer risk scale**. Int J Cancer. 2021 Jan 1; 148(1):38-47.
4. Société Nationale Française de Colo-Proctologie. **Lésions pré-cancéreuses anales liées aux papillomavirus humains : Dépistage et prise en charge** [Internet]. Available from: <https://www.snfcsp.org/wp-content/uploads/2017/03/Recommandations-pour-la-pratique-clinique-2022-texte-court.pdf>
5. Van der Zee RP, Richel O, van Noesel CJM, Novianti PW, Ciocanea-Teodorescu I, van Splunter AP, et al. **Host Cell Deoxyribonucleic Acid Methylation Markers for the Detection of High-grade Anal Intraepithelial Neoplasia and Anal Cancer**. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2019 Mar 19; 68(7):1110-7.



SAVE BRAIN

AVC, EFFETS SECONDAIRES DE LA REPERFUSION

PARIS : INSERM
SOUTENU DEPUIS 2016



NEUROLOGIE

Pr Antonino NICOLETTI

CONTEXTE

Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) sont la 5^{ème} cause de décès aux États-Unis et la 1^{ère} cause de handicap chez les adultes dans le monde. 80% sont de nature ischémique et résultent d'une occlusion thromboembolique d'une artère cérébrale qui entraîne des lésions tissulaires irréversibles si elle n'est pas levée. La reperfusion s'accompagne toutefois de processus néfastes médiés par les leucocytes, en particulier les neutrophiles, qui infiltrent le tissu ischémié.

OBJECTIFS

Contrôler les actions délétères des leucocytes pendant les phases d'occlusion et de reperfusion afin de limiter les séquelles des AVC.

Pour ce faire, nous souhaitons :

- Identifier des biomarqueurs circulants spécifiques de l'activation neutrophilaire à la phase aiguë de l'AVC ;
- Caractériser les facteurs de risque des AVC impactant l'activation neutrophilaire ;
- Mettre au point des méthodes d'imagerie pour visualiser l'inflammation cérébrale ;
- Développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour réduire l'activation des neutrophiles en capitalisant sur les outils développés dans l'équipe pour interférer sur la signalisation CD31, une molécule centrale de l'interface sang/vaisseaux.

RÉSULTATS

- Protection de la barrière hémato-encéphalique (BHE) à l'aide d'un peptide qui restaure la signalisation du CD31 [brevet].
- Sélection d'un nouveau peptide 'SP951'.
- Volume des infarctus est > chez les rats hyperglycémiques. Les neutrophiles de patients hyperglycémiques adhèrent davantage aux cellules endothéliales.
- Une bactérie parodontale (*Porphyromonas gingivalis*, Pg) compromet l'intégrité de la BHE lors d'épisodes d'ischémie/reperfusion (IR).
- Nouveau modèle infectieux de Pg reproduisant la maladie parodontale--> séquelles plus sévères suite à une IR cérébrale (ms).
- Les neutrophiles et les NETs sont des constituants importants des thrombus cérébraux.

- Identification de 2 candidats médicament pour inhiber l'élastase.
- Nouveaux outils d'imagerie moléculaire.
- Ciblage du CD31 clivé en contexte d'IR.
- Le degré de défaillance des mécanismes de régulation des neutrophiles est corrélé aux résultats cliniques post-AVC.
- Résultats confirmés dans une cohorte de validation et résultats étendus chez des patients se présentant avec de gros infarctus (ms en préparation).

RÉSULTATS

- Significant strides in drug development, with an in vitro assay for evaluating drugs that target the formation of NETs. Protected by a new patent application. A new cell line to aid in drug discovery and structure-activity relationship analysis.
- Broadening our research to include "Immunoregulatory receptors with a cluster-dependent activation".
- Development of a new hardware and sequences for mouse brain imaging --> Magnetic resonance elastography to capture early imaging biomarkers of post-stroke recovery or aggravation.
- Impact of periodontal disease on stroke severity. Pg bacteremia can compromise the integrity of the BHE during IR episodes.
- New hypothesis where periodontal diseases could influence hematopoiesis, which could have implications for cardiovascular diseases, particularly cerebrovascular ones.
- Collaboration with Prof P Amarenco continues to yield valuable insights --> correlation between the degree of failure of neutrophil regulation mechanisms and clinical outcome post-stroke, and we've performed a similar analysis with the new CATS cohort as a validation cohort.

Publications & Brevet

1. Ducroux C, *et al.* **Thrombus Neutrophil Extracellular Traps Content Impair tPA-Induced Thrombolysis in Acute Ischemic Stroke.** *Stroke* 2018;49:754-757.
2. Patent: Desilles JP, *et al.* **Méthodes et compositions pharmaceutiques pour le traitement d'un accident vasculaire ischémique cérébral aigu.** 2018. WO2018210860A1.
3. Vigne J, *et al.* **Cleaved CD31 as a target for in vivo molecular imaging of inflammation.** *Sci Rep* 2019;9:19560.
4. Hoang QT, *et al.* **Peptide binding to cleaved CD31 dampens ischemia/reperfusion-induced intestinal injury.** *Intensive Care Med* 2018;6:27.
5. Meseguer E, *et al.* **Osteopontin Predicts Three-Month Outcome in Stroke Patients Treated by Reperfusion Therapies.** *J Clin Med* 2020;9.



CERMAD

MALADIE D'ALZHEIMER & PARCOURS CLINIQUE

PARIS : Fondation de l'APHP
SOUTENU DEPUIS 2017

Dr Bruno DUBOIS

CONTEXTE & OBJECTIFS

Il n'est nul besoin de rappeler l'enjeu de Santé publique que représentent la maladie d'Alzheimer (MA) et maladies apparentées. Les lésions de la MA sont présentes plusieurs années avant que les symptômes n'apparaissent et les traitements, pour être actifs, doivent cibler les phases les plus précoces de la maladie. Le moment est venu de développer la recherche clinique dans la MA pour identifier des marqueurs précoces et fiables. C'est l'objectif du projet CERMAD : créer un grand centre européen de recherche clinique sur la MA. Il s'appuie sur les arguments suivants :

- La recherche clinique des maladies neurodégénératives a pris un retard considérable en France.
- Cette recherche clinique doit se faire sur le GHPS, compte tenu des forces en présence :
 - L'ICM avec 28 équipes de recherche en neuroscience, ses plateformes technologiques de neuro-imagerie, de neuroscience cognitive, de bio-technologie et d'incubateur.
 - Le pôle des maladies du système nerveux avec 300 médecins.
 - Les ressources locales avec 5 IRM, une MEG, 2 PET-Scan et un PET-IRM.
 - L'IM2A : premier centre français d'essais cliniques dans la MA ; centre de référence national « démences rares » et centre « malade Alzheimer jeune » ; et centre d'excellence dans les maladies neurodégénératives (CoEN de Paris).
- Avec l'ambition à long terme de la construction d'un bâtiment dédié à la recherche clinique pour les maladies neurodégénératives pour la région IdF et ses 12 millions d'habitants.

RÉSULTATS

Constitution de cohortes de patients exceptionnelles :

- **Etude Insight** : suivi longitudinal d'une cohorte de 318 sujets au statut amyloïde connu (88 A + en PET Scan) avec 29 publications internationales au cours de ces 3 dernières années, qui montrent :
 - L'existence de mécanismes de compensation (modification de la bande Alpha dans la région frontale en EEG), chez les sujets (+) restent normaux sur le plan cognitif.

- Le profil de risque qui associe un âge plus élevé, la présence d'une Apolipoprotéine E de type 4 dans le sang, de troubles dysexécutifs discrets lors de l'évaluation cognitive initiale et d'un volume hippocampique légèrement inférieur.

- **La cohorte Socrates** : comporte 350 patients souffrant de différents types de démence, hautement phénotypés (notamment PET-IRM et PL avec biomarqueurs systématiques) avec base de données, biobanking et suivi longitudinal annuel.

Projet Santé Cerveau :

Il s'agit d'un projet structurant sur la région IdF consistant dans la mise au point d'un outil digital évaluant les fonctions cognitives, utilisable à distance. Un protocole de validation est en cours qui montre une très bonne concordance entre la performance Santé Cerveau et le bilan approfondi réalisé dans le centre mémoire. L'application est développée en partenariat avec l'ARS et avec le réseau de consultation de mémoire et des pharmaciens.

PERSPECTIVES

L'annonce récente de résultats encourageants, concernant les études de phase 3 de l'aducanumab, justifie et renforce l'importance de l'approche qui a conduit au CERMAD. En effet ils devraient confirmer :

- La légitimité de la cible amyloïde ;
- La nécessité de découvrir parmi les sujets qui ont des dépôts amyloïdes pathogènes les marqueurs - ou plus probablement les algorithmes - identifiant les sujets à risque d'évolution rapide, ce qui nécessite un large recueil de données dans des cohortes multimodales ;
- La nécessité de rechercher des cibles complémentaires ;
- La nécessité de créer des centres spécialisés capable d'assurer à la fois la fonction de centre de recherche clinique et de centre de dépistage et de traitement. Les interventions thérapeutiques devraient être des actions de prévention secondaire chez les sujets à risque de bascule dans le stade prodromal de la maladie.

Publications

1. Federica Cacciamani *et al.* **Neurosci.** 2021; 13: 697234.
2. Gregory Penner *et al.* **PLoS One.** 2021; 16(1): e0243902.
3. Dubois B *et al.* **Lancet Neurol.** 2021 June; 20 (6): 484-496.
4. Dubois B *et al.* **Lancet Neurol.** 2018 Apr;17(4):335-346.
5. Vergallo A. and the INSIGHT-preAD study group. **Alzheimers Dement.** 2019 Jun;15(6):764-775.



CogFrail

LIEN ENTRE FRAGILITÉ, DÉFICIENCES COGNITIVES ET SIGNES NEUROLOGIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

PARIS : CHU de Toulouse - Toulouse Gérontopôle
SOUTENU DEPUIS 2015

Pr Bruno VELLAS

CONTEXTE

La fragilité physique et les troubles cognitifs sont deux complications fréquentes du vieillissement qui ont longtemps été étudiées comme deux entités séparées. De nombreuses études transversales et longitudinales témoignent cependant d'un lien entre ces deux syndromes, laissant supposer que des mécanismes physiopathologiques communs pourraient mener à la co-expression de signes physiques d'un côté et cognitifs de l'autre.

En ce sens, le concept de « fragilité cognitive » a été défini en 2013 par Kelaiditi *et al.*, comme une manifestation clinique hétérogène associant une fragilité physique définie par les critères de Fried et un trouble cognitif défini par une CDR (Clinical Dementia Rating Scale) à 0.5. Elle concernerait 11 à 22% des sujets âgés sur les lieux de soins, et 1 à 4% dans la population générale. Différents facteurs ont été évoqués pour expliquer ce lien : des facteurs vasculaires, hormonaux, thymiques, mais également des lésions neuropathologiques. Plusieurs études suggèrent effectivement qu'il existerait un lien direct entre les lésions développées dans le cadre des pathologies neurodégénératives et une fragilité physique. La présence de lésions amyloïdes cérébrales notamment serait associée à la fragilité, et à un risque d'aggravation de la fragilité. Notre hypothèse est donc que la fragilité cognitive pourrait être expliquée par la présence d'une amyloïdopathie cérébrale chez une proportion importante de sujets.

OBJECTIFS

L'étude CogFrail est une étude originale, incluant directement dans un service de soin dédié à l'évaluation de la fragilité, des sujets âgés présentant une fragilité physique (critères de Fried) et un trouble cognitif objectif, sans diagnostic de trouble cognitif majeur. L'objectif principal est de mesurer la prévalence des sujets présentant une amyloïdopathie cérébrale dans cette population grâce à la réalisation d'une TEP-amyloïde ou une ponction lombaire. L'évaluation d'une série de paramètres cliniques, nutritionnels, physiques, d'imagerie structurelle (par IRM cérébrale), et sanguins, nous permettront également d'évaluer les autres causes possibles de fragilité cognitive.

RÉSULTATS

Un total de 317 participants a été inclus. A l'inclusion, les participants ont une moyenne d'âge de 82.6 ans (\pm 5.2 ans), sont essentiellement des femmes (64%), avec un score MMSE moyen à l'inclusion de 24.3 (\pm 2.8)). Sur le plan physique, 55.1% sont pré-fragiles et 44.9% fragiles, avec une vitesse de marche moyenne à 0.79 (\pm 0.22). La prévalence des sujets porteurs de l'allèle apoE4 est de 28.4%. Les résultats des 199 TEP réalisées et de l'analyse du LCR de 16 sujets nous permettent de montrer que la prévalence des sujets avec statut amyloïde positif est de 58.1% (IC 95% 51.2% - 64.8%). La prévalence élevée du statut amyloïde positif dans la population soulève la question des traitements anti-amyloïdes dans la population de sujets âgés fragiles. Sur le plan nutritionnel, les sujets avec un statut amyloïde positif ont des apports nutritionnels totaux et protéiques plus élevés que les sujets amyloïde négatif. Une analyse de l'association entre les acides gras, la vitamine D, B6, B12 B9 et l'homocystéine a permis de montrer que les acides gras étaient les principaux nutriments associés avec la charge amyloïde dans cette population. Sur les données IRM, on ne retrouve pas de différence entre les deux populations concernant les données volumétriques hippocampiques et de la substance blanche entre les sujets amyloïdes positif ou négatif, et les sujets pré-fragiles ou fragiles. Le nombre de microbleeds n'est pas statistiquement différent entre les sujets amyloïdes positif ou négatif (3.0 \pm 11.0 vs 2.0 \pm 2.7, $p=0.481$), ou en fonction du statut de fragilité.

WHAT'S NEW ?

Les travaux sont en cours sur les données longitudinales (suivi à 2 ans), sur les troubles du comportement associés aux troubles cognitifs dans cette population, sur la valeur prédictive des biomarqueurs sanguins de maladie d'Alzheimer (phospho-tau 181) dans la population de sujets de la cohorte.

Publications

1. De França NAG, Díaz G, Lengelé L, Soriano G, Caspar-Bauguil S, Saint-Aubert L, Payoux P, Rouch L, Vellas B, Barreto PS, Sourdet S. **Associations between blood nutritional biomarkers and cerebral Amyloid- β : Insights from the COGFRIL Cohort Study.** J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2023 Oct 25;glad248. doi: 10.1093/geronol/glad248. PMID: 37879623.
2. Lengelé L, Sourdet S, Soriano G, Rolland Y, Soler V, de Souto Barreto P. **Cross-sectional associations of dietary intake with hearing and vision capacities and potential mediation effect of inflammation in older adults: the COGFRIL study.** Aging Clin Exp Res. 2023 Jun;35(6):1325-1337. doi: 10.1007/s40520-023-02418-7. PMID: 37119508.
3. Sourdet S, Soriano G, Saint-Aubert L, Steinmeyer Z, Payoux P, Hitzel A, Julian A, Nogueira L, Ousset PJ, De Souto Barreto P, Delrieu J, Vellas B. **Prevalence and factors associated with amyloid cerebral pathology in older adults with frailty and cognitive impairment: The Cogfrail Study.** (Submitted).



MEMORA

DÉPENDANCE ET MALADIE D'ALZHEIMER

LYON : Hospices Civils de Lyon
SOUTENU DEPUIS 2017

Mohamed NOUR TEMEDDA, Antoine GARNIER-CRUSSARD, Claire MOUTET, Mathieu VERDURAND, Achille TEILLAC, Frédéric GERVAIS, Pierre KROLAK-SALMON, Christelle MOUCHOUX, Virginie DAUPHINOT & le groupe de recherche MEMORA-MEMAURA.

CONTEXTE

Le déclin cognitif et fonctionnel chez les patients avec troubles neurocognitifs (TNC), dont la Maladie d'Alzheimer, est une des causes principales d'entrée en institution, et conduit à une altération de la qualité de vie du patient et son entourage. L'identification de facteurs de risque potentiellement modifiables du déclin cognitif et fonctionnel est donc un enjeu de santé publique majeur. Parmi ces facteurs, les comorbidités pourraient influencer l'évolution des TNC et l'entrée en institution. Dans une étude précédente, nous avons montré que les comorbidités avaient un effet significatif sur la conversion du stade mineur au stade sévère des TNC. Des études antérieures ont aussi montré que la dépression, le diabète et l'hypertension artérielle augmentaient le déclin cognitif et fonctionnel, ainsi que le risque d'institutionnalisation ; néanmoins ces études ont étudié l'effet de chaque condition médicale et non l'ensemble des maladies co-existantes pour évaluer l'effet global des comorbidités. Dans des revues systématiques antérieures (Gaugler *et al.* 2009, Toot *et al.* 2016), les résultats sur l'association entre les comorbidités et le risque d'institutionnalisation chez des patients avec TNC n'étaient pas concluants pour les auteurs, en raison du faible nombre d'études disponibles.

Une mesure globale des comorbidités pourrait fournir davantage d'informations en tenant compte du nombre et de la sévérité des comorbidités. L'amélioration de la compréhension de l'impact du fardeau des comorbidités sur l'institutionnalisation pourrait contribuer à développer des interventions visant à repousser l'entrée en institution.

OBJECTIFS

Évaluer l'impact des comorbidités mesurées avec deux méthodes (le score de Charlson (CCI) et l'indice pondéré de multimorbidité (MWI)) sur le risque d'entrée en institution, chez des patients avec TNC.

RÉSULTATS

Un total de 1115 patients (âge moyen : 80,65 ± 7,4 ans, 62,2% de femmes (n=694)) atteints de la maladie d'Alzheimer, ont été inclus dans l'étude, la durée moyenne de suivi était de 36,2 mois. La majorité des participants présentaient des TNC sévères (n=697, 62,5%) ; 30,4% des patients sont entrés en institution (délai moyen avant institutionnalisation: 20,5 mois). Les patients entrés en institution étaient plus âgés (83,8 ± 1,1 vs 79,3 ± 7,4, p < 0,001), et avait un taux significativement plus élevé de troubles neurocognitifs sévères à l'inclusion (78,25% vs 21,5%, p < 0,001) en comparaison des patients n'ayant pas été institutionnalisés durant la période de suivi. Les patients institutionnalisés présentaient des niveaux plus élevés de comorbidités, mesurées par le CCI (2,25 ± 1,9 vs 1,9 ± 1,9, p = 0,006) et le MWI (7,6 ± 5,1 vs 6,3 ± 5,1, p < 0,001).

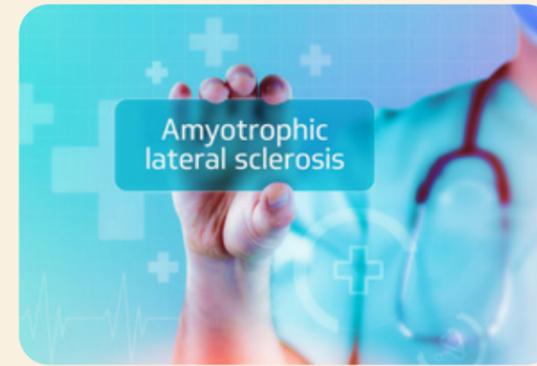
Le modèle de Cox ajusté sur l'âge, le sexe, et la sévérité des TNC a montré que les comorbidités étaient associées à un risque accru d'institutionnalisation : Un CCI ≥ 3 était associé à un Hazard Ratio (HR) de 1,72 (95% CI [1,2 - 2,4], p < 0,001), et un CCI entre 1 et 2 était associé à un HR de 1,45 (95% CI [1 - 1,2], p = 0,02), comparativement au groupe avec un CCI à 0. Un MWI >6 était associé à un HR de 2,4 (95% CI [1,3 - 4,4], p = 0,004), et un MWI entre 0 et 6 était associé à un HR de 1,8 (95%CI [1 - 3,4], p = 0,054), comparativement à un MWI de 0.

WHAT'S NEW ?

Cette étude est une des premières à mettre en évidence une association significative entre la sévérité des comorbidités mesurée à la fois par le CCI et la MWI et le risque d'institutionnalisation chez des patients avec TNC et suivis en consultation mémoire. Bien que les comorbidités ne se soient pas révélées être un prédicteur majeur de l'entrée en institution, notre étude met en évidence que les comorbidités sont un facteur aggravant, et l'amélioration de leur prise en charge pourrait permettre de réduire ce risque.

Publications

- Dauphinot *et al.* Economic and caregiver impact of Alzheimer's disease across the disease spectrum: a cohort study. *Alzheimers Res Ther.* 2022 Feb 12;14(1):34. doi: 10.1186/s13195-022-00969-x. PMID: 35151368; PMCID: PMC8841058.
- Gervais F, Dauphinot V, Mouchoux C, Krolak-Salmon P. Exposure to Anticholinergic and Sedative Drugs and Healthcare Costs in Older Patients with Neurocognitive Disorders. *J Alzheimers.*



SONOSLA

APPROCHE THÉRAPEUTIQUE D'OUVERTURE TRANSITOIRE RÉPÉTÉE DE LA BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE DANS LA SLA / MALADIE DE CHARCOT

PARIS : Fondation Sorbonne Université - Sorbonne Université - AHPH
SOUTENU DEPUIS 2023

Pr Gaëlle BRUNETEAU & Pr Alexandre CARPENTIER

CONTEXTE

SonALS clinical trial: Therapeutic approach of repeated transient blood-brain barrier opening in amyotrophic lateral sclerosis. A one-arm, single-center, proof-of-concept phase 1&2 clinical trial.

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease with progressive loss of motor neurons leading to extensive muscle paralysis and ultimately death from respiratory failure in 3-5 years. There is a critical unmet need for effective, disease-modifying therapies in ALS, with to date only three FDA-approved drugs showing only a modest clinical effect. Neuroinflammation is one of the key mechanisms that have been implicated in the pathogenesis and progression of ALS but, to date, systemic administration of general immune modulators has failed to show any efficacy, suggesting that targeted immunoregulation may be required. Overall, the blood brain barrier (BBB) is a barrier to drug delivery to the central nervous system (CNS) contributing to the difficulty of developing effective treatments for ALS. There have been recent advances in the field of gene therapy with the development of ASOs targeting major ALS causative or disease modifier genes. However, ASOs do not cross the BBB and their administration requires frequent intrathecal injections with a significant burden on patients, families, and society.

Low intensity pulsed ultrasound can be used to transiently disrupt the BBB without tissue damage to enhance drug penetration.

Preclinical research performed at our institution founded that in ALS mouse model (B6.Cg-Tg(SOD1*G93A)1Gur/J), the Blood spinal cord barrier repeated disruption using a 1 MHz ultrasound transducer is safe and demonstrated a survival advantage in mice treated with ultrasound alone vs untreated mice (178.5 vs. 166.5 days, p=0.018). Analysis of glial cell immunoreactivity and lymphocyte infiltration suggested that the beneficial effect of US could act through immune cell modulation. These results show the first step towards a possible beneficial impact of transient BSCB opening for ALS therapy, and suggest implication of immune cells (Montero *et al.*, *bioMedicine*, in press).

Ultrasound-induced BBB disruption can also modulate the immune response in the central nervous system and may then be therapeutic by itself in ALS by stimulating innate and cellular immune responses.

OBJECTIFS

The SonALS clinical trial will be the first-world to evaluate repeated transient BBB disruptions (9 sessions) in the upper motor neuron and adjacent supplementary motor cortex area with no concomitant drug administration

over a prolonged period (6 months) in early stage ALS patients. This is a proof-of-concept, single-arm, single-center clinical trial :

- to assess the safety of the procedure (phase 1, n=12) and
- to explore the efficacy of the procedure (phase 2a, n=23) on neurofilament light (NfL) blood levels (biomarker for neurodegeneration and clinically validated prognostic biomarker for ALS). As Secondary efficacy objectives, BBB transient opening will be confirmed by MRI and blood biomarkers (NfL, S100β, Aquaporin-4 and NSE) and efficacy on Disease progression over 26 weeks will be evaluated by motor function (ALSFRS-R score, Muscle strength), Cortical excitability of the treated hemisphere utilizing the threshold tracking transcranial magnetic stimulation (TMS) technique, QOL, Overall Survival (OS) defined as time from baseline to death. Additionally, Overall Survival of US treated patients will be compared to a control group from an external placebo control arm from PRO-ACT international database.

RÉSULTATS

- This BBB opening highly innovative strategy has the potential to change the current neuroprotective management of ALS by modulating neuroinflammation, leading to prolonged survival and milder impairment of motor function as we noticed on preclinical SOD1 models.
- For the participants in the SonALS study, the procedure could have an individual benefit by being neuroprotective in itself through modulation of neuroinflammation and lead to prolonged survival and milder impairment of motor function.
- Safety evaluation of such a procedure has the potential to change current management of ALS by allowing future systemic drug administration that do not normally cross the BBB such as gene therapies, antibodies, antisense therapies, ...

Publications

- Temporary Blood-Brain Barrier Disruption Using a Nine-Emitter Skull Implantable Ultrasound Device in Patients with Recurrent Glioblastoma Undergoing Carboplatin Chemotherapy. A. Carpentier *et al.* *Nature communications* 2023 in press.
- Repeated blood-brain barrier opening by an implantable ultrasound device for enhanced delivery of albumin-bound paclitaxel in patients with recurrent glioblastoma: a phase 1 trial. A. Sonabend *et al.* *Lancet oncol* 2023 24(5):509-522. PMID: 37142373.
- Effects of Low-Intensity Pulsed Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening in P301S Mice Modeling Alzheimer's Disease Tauopathies. Géraudie A. *et al.* *Int J Mol Sci.* 2023 3:24(15):12411. PMID: 37569786.
- Low-Intensity Pulsed Ultrasound-Mediated Blood-Brain Barrier Opening Increases Anti-Programmed Death-Ligand 1 Delivery and Efficacy in G1261 Mouse Model. A. Mohammed *et al.* *Pharmaceutics* 2023 15(2), 455 ; PMID 36839777.
- Development and Evaluation of a Simulation-Based Algorithm to Optimize the Planning of Interim Analyses for Clinical Trials in ALS. van Unnik JWJ *et al.* *Neurology.* 2023 Jun 6 ; 100(23). PMID: 37085329.





MEKANOS

ÉVALUATION DE LA RÉSISTANCE MÉCANIQUE DE L'OS TUMORAL

LYON : Hospices Civils de Lyon - INSERM
SOUTENU DEPUIS 2018



ONCOLOGIE

Pr Cyrille CONFAVREUX

CONTEXTE

La fracture pathologique est une complication majeure des métastases osseuses. Elle est responsable de douleurs sévères, de perte de mobilité (os longs), de compression médullaire et de déformation (vertèbres). A l'impotence fonctionnelle s'associe l'interruption du traitement oncologique et les complications de décubitus. L'évaluation et la prévention du risque fracturaire est un enjeu majeur de la prise en charge. Le projet MEKANOS vise à modéliser le risque fracturaire d'une lésion osseuse de façon personnalisée à partir du scanner quantitatif (qCT) de routine.

MEKANOS est un projet translationnel qui s'appuie sur les compétences multidisciplinaires du Centre Expert des Métastases Osseuses des Hospices Civils de Lyon (CEMOS) notamment orthopédiques (Dr Chaudier, Dr Massardier), scannographiques (Pr Pialat) et rhumatocancérologiques (Pr Confavreux), de l'expertise en modèles animaux, en biomécanique et en simulation numérique de l'INSERM U1033 (Dr Follet) et de l'Université Gustave Eiffel (Dr Mitton).

OBJECTIFS

- Tester *in vivo* la résistance mécanique à partir d'un modèle murin afin de développer le modèle numérique.
- Mesurer la résistance mécanique d'une lésion secondaire ostéolytique du fémur ou d'une vertèbre par simulation numérique à l'aide de la méthode d'analyse des éléments finis (FEA).
- Tester le modèle numérique sur des vertèbres et des fémurs *ex vivo* à l'aide de tests de résistance mécanique.
- Créer un outil d'intelligence artificielle permettant la segmentation automatique des métastases osseuses.
- Obtenir un outil d'évaluation numérique personnalisée d'évaluation puis de réévaluation de la résistance mécanique de l'os tumoral.

RÉSULTATS

Le modèle murin de métastase osseuse développé a permis de tester la résistance mécanique de l'os tumoral et de développer le modèle numérique.

De plus, des tests de résistance mécanique ont été réalisés sur des vertèbres et des fémurs humains *ex-vivo*, avec des lésions induites chirurgicalement, afin de tester le modèle numérique. Des éléments impactant la résistance ont été observés. Enfin, des preuves de concept de simulation numériques ont été effectuées sur fémur et vertèbres de patients.

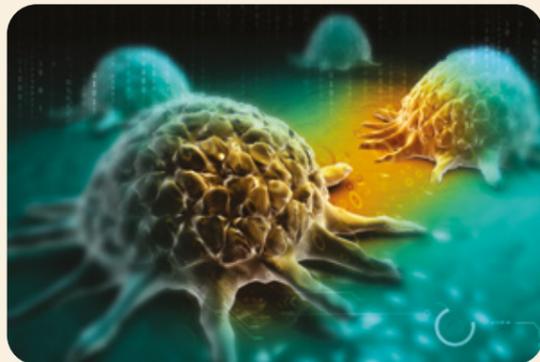
Sur le versant clinique, l'étude MEKANOS est ouverte dans 9 centres investigateurs. Des différences majeures concernant les propriétés densitométriques et architecturales des lésions osseuses de cancer primitif solide (poumon, sein, rein, vessie, thyroïde) par rapport à celles de myélome ont pu être observées. Ceci a permis de redéfinir le nombre de patients à inclure : pour les cancers solides, 30 patients ayant au moins une métastase vertébrale et 30 patients ayant au moins une métastase fémorale; et même répartition pour les myélomes (30 vertèbres, 30 fémurs).

A ce jour, 87 patients ont été inclus : parmi les patients atteints de cancer solide, 30 et 18 présentant des lésions vertébrales et fémorales respectivement et 28 et 11 respectivement pour les patients atteints de myélomes. Les images issues de ces scanners sont en cours d'analyse afin de valider les modalités d'analyse FEA.

De plus, 31 patients (7 cancers du sein, 7 cancers du rein, 5 cancers de la thyroïde et 12 métastases osseuses) ont été inclus dans l'étude ancillaire concernant l'analyse biomécanique du tissu tumoral ; les propriétés biomécaniques des tissus tumoraux ont été analysées (Levillain *et al.* 2022). Une analyse des propriétés intrinsèques de l'interface os/métastase a également débuté et se poursuit actuellement.

Publications

2023. M. Gardegaront, A. Sas, D. Brizard, A. Levillain, F. Bermond, C.B. Confavreux, J.B. Pialat, H. Van Lenthe, H. Follet, D. Mitton. **Inter-laboratory replicability and sensitivity study of a finite element model to quantify human femur failure load: case of metastases.** JMBBMD-23-01657, submitted Nov 2023.
2023. V. Allard, C. Heidsieck, F. Bermond, C. Confavreux, C. Travert, L. Gajny, W. Skalli, D. Mitton, H. Follet. **COMPARISON OF TWO MODELS TO PREDICT VERTEBRAL FAILURE LOADS ON THE SAME EXPERIMENTAL DATASET.** Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering in Springer book, accepted.
2023. S. Nicolle*, J.F. Paliarne, D. Mitton, H. Follet, C.B. Confavreux. **Multi-frequency shear modulus measurement discriminates tumorous from healthy surrounding tissues.** Volume 140, doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.105721. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Material.
2022. A. Levillain, C.B. Confavreux, M. Decaussin-Petrucci, E. Durieux, P. Paparel, K. Le-Bail Carval, L. Maillard, F. Bermond, D. Mitton, H. Follet. **Mechanical properties of breast, kidney, and thyroid tumours measured by AFM: relationship with tissue structure.** Materialia. Vol 25, September 2022, doi.org/10.1016/j.mta.2022.101555.
2021. C.B. Confavreux, H. Follet, D. Mitton, J.B. Pialat, P. Clézardin. **Fracture Risk Evaluation of Bone Metastases: A Burning Issue.** Cancers 2021, 13, 5711. doi.org/10.3390/cancers13225711.



MI-RIOT

CELLULES LYMPHOÏDES INNÉES ET CANCER

📍 MARSEILLE : CIML - INSERM
SOUTENU DEPUIS 2016

Dr Frédéric VÉLY & Pr Éric VIVIER

CONTEXTE & OBJECTIFS

La famille des cellules lymphoïdes innées (ILC) est composée des cellules tueuses naturelles (Natural Killer: NK), ILC1, ILC2 et ILC3, qui participent aux réponses immunitaires aux virus, bactéries, parasites et cellules transformées. Les sous-ensembles ILC1, ILC2 et ILC3 résident principalement dans les tissus et sont profondément marqués par leur organe de résidence. Ils présentent des effets pléiotropiques, entraînant des réponses apparemment paradoxales telles que la réparation des tissus ou, au contraire, l'immunopathologie vis-à-vis des allergènes et la promotion de la tumorigenèse. Malgré cela, un petit nombre d'études suggère aujourd'hui que les ILC non NK ne sont pas forcément très tumorigènes et qu'elles pourraient être exploitées pour générer des réponses anti-tumorales. L'objectif de notre étude est d'analyser le comportement des ILC dans le cancer afin d'évaluer l'intérêt de leur ciblage en immunothérapie anti-tumorale.

RÉSULTATS

Les cellules NK sont des ILC impliquées dans les réponses antimicrobiennes et antitumorales. Plusieurs sous-ensembles de cellules NK ont été signalés chez l'homme et la souris, mais leur hétérogénéité entre les organes et les espèces reste mal caractérisée. Nous avons évalué la diversité des cellules NK de l'homme et de la souris par séquençage de l'ARN unicellulaire sur des milliers de cellules individuelles isolées de la rate et du sang. Un regroupement transcriptionnel non biaisé a révélé deux signatures distinctes différenciant les cellules NK spléniques et sanguines. Cette analyse à résolution unicellulaire a permis d'identifier trois sous-populations dans la rate de souris et quatre dans la rate humaine, ainsi que deux sous-populations dans le sang de souris et dans le sang humain. Une comparaison des profils transcriptionnels au sein d'une même espèce et entre espèces a mis en évidence la similitude des deux principales sous-populations, NK1 et NK2, entre les organes et les espèces. Cette approche impartiale permet de mieux comprendre la biologie des cellules NK et de justifier l'application des études sur les souris à la physiologie et aux maladies humaines. (Résultats dans Crinier A., et al., 2018).

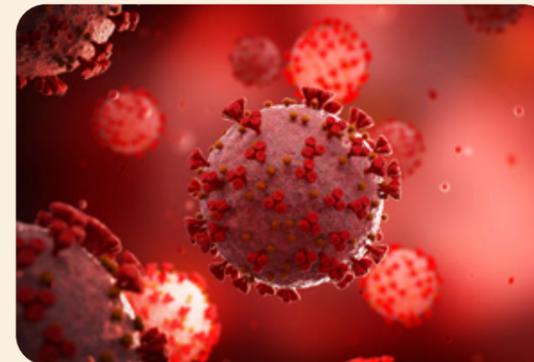
Les cellules NK sont des ILC impliquées dans la destruction des cellules infectées et tumorales. Parmi les cellules NK humaines et murines de la rate et du sang, nous avons précédemment identifié par séquençage de l'ARN unicellulaire (scRNAseq) deux sous-ensembles majeurs similaires, NK1 et NK2. En utilisant la même technologie, nous rapportons ici l'identification, par séquençage d'ARN unicellulaire (scRNAseq), de trois sous-populations de cellules NK dans la moelle osseuse humaine.

L'analyse des pseudo-fréquences a permis d'identifier un sous-ensemble de cellules NK CD56brillant résidentes, les cellules NK0, comme pré-curseur des cellules NK circulantes CD56dim NK1-like et des cellules NK CD56brillant NK2-like dans la moelle osseuse et la rate humaines dans des conditions physiologiques. Les profils transcriptomiques des cellules NK de la moelle osseuse de patients atteints de leucémie myéloïde aiguë (LMA) ont révélé une répression des fonctions effectrices des cellules NK induite par le stress, soulignant l'impact profond de cette maladie sur l'hétérogénéité des cellules NK. Les cellules NK de la moelle osseuse des patients atteints de LAM présentaient des niveaux réduits de CD160, mais le groupe à CD160 élevé avait un taux de survie significativement plus élevé. (Résultats dans Crinier A., et al., 2021).

Les ILC sont des lymphocytes résidant dans les tissus qui se distinguent des lymphocytes T classiques par l'absence de récepteurs spécifiques aux antigènes. Les ILC comprennent les cellules NK, les ILC1, ILC2 et ILC3 de type auxiliaire, et les cellules inductrices de tissu lymphoïde (LTi). Les ILC tumorales sont fréquemment présentes dans divers cancers, mais leur rôle dans l'immunité contre le cancer et l'immunothérapie reste largement obscur. Nous rapportons ici la caractérisation unicellulaire des sous-ensembles de cellules ILC de type helper dans le sang et dans l'intestin dans des conditions saines et dans le cancer colorectal (CRC). L'intestin sain contient des ILC1, ILC3 et ILC3/NK, mais pas d'ILC2. Des sous-ensembles supplémentaires d'ILC1-like et d'ILC2 spécifiques des tumeurs ont été identifiés chez les patients atteints de cancer colorectal. Le membre 1 de la famille de la molécule d'activation lymphocytaire de signalisation (SLAMF1) s'est avéré être sélectivement exprimé sur les ILC spécifiques des tumeurs, et des niveaux plus élevés d'ILC SLAMF1+ ont été observés dans le sang des patients atteints de CRC. Le groupe de patients atteints de cancer colorectal présentant un taux élevé de SLAMF1 avait un taux de survie significativement plus élevé que le groupe présentant un taux faible de SLAMF1, ce qui suggère que SLAMF1 est un biomarqueur anti-tumoral dans le cancer colorectal. (Résultats dans Qi J., et al., 2021).

Publications

1. Crinier A., et al. **Definition of Natural Killer cell heterogeneity in human and mouse by high-throughput single-cell RNA sequencing.** *Immunity*, 2018, 49:971-986.
2. Crinier A., et al. **Single-cell profiling reveals the trajectories of natural killer cell differentiation in the bone marrow and a stress signature induced by acute myeloid leukemia.** *Cell Mol Immunol.*, 2021, 18:1290-1304.
3. Qi J., et al. **Single cell transcriptomic landscape reveals tumor specific innate lymphocyte cells associated with colorectal cancer progression and immunity.** *Cell Reports Medicine*, 2021, 2, 100353.
4. Jacquilot N., et al. **Innate Lymphoid Cells and Cancer.** *Nature Immunology*, 2022, 23:371-379.
5. Crinier A., et al. **Multidimensional molecular control to define NK/ILC1 identity in cancers.** *Seminars in Immunology*, 2020 Nov 30:101424. doi: 10.1016/j.smim.2020.101424.
6. Crinier A., et al. **Helper-like innate lymphoid cells and cancer immunotherapy.** *Seminars in Immunology*, 2019 Feb;41:101274. doi: 10.1016/j.smim.2019.04.002.



MI-RIOT

ASSOCIATION DE L'INFLAMMATION LIÉE À LA COVID-19 AVEC L'ACTIVATION DE L'AXE C5a-C5aR1

📍 MARSEILLE : CIML - INSERM
SOUTENU DEPUIS 2016

Pr Éric VIVIER & Dr Frédéric VÉLY

CONTEXTE

La plupart des patients atteints de COVID-19 ne présentent que quelques symptômes légers, mais environ 15 % des patients évoluent vers une pneumonie sévère, et environ 5 % développent un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), pour lesquels de nouvelles stratégies thérapeutiques sont toujours requises.

Le système immunitaire joue un double rôle dans le COVID-19, contribuant à la fois à l'élimination du virus et au développement du SDRA. Une caractérisation détaillée des réponses immunitaires survenant au cours de la progression de la maladie, des formes légères aux formes graves, est donc cruciale pour comprendre comment nous pourrions manipuler l'immunité afin de proposer de nouvelles thérapies.

En particulier, étant donné le besoin urgent de traitements efficaces pour la pneumonie chez les patients atteints de COVID-19, la dissection des réponses immunitaires qui se produisent au cours de l'évolution de COVID-19 pourrait conduire à la réorientation d'immunomodulateurs approuvés et de candidats médicaments déjà approuvés.

OBJECTIFS

Nous avons donc suivi les paramètres immunitaires dans une cohorte de 82 individus : 10 témoins sains (HC), 10 patients paucisymptomatiques (pauci) du COVID-19, 34 patients atteints de pneumonie (pneumo) et 28 patients atteints de SDRA dû au SRAS-CoV-2.

Nous nous sommes concentrés sur les voies moléculaires qui pourraient bloquer l'inflammation associée au SDRA.

RÉSULTATS

- La sévérité de la maladie est associée avec une augmentation de chimiokines et cytokines pro-inflammatoires circulantes (IL-6, CCL4, CCL2, CXCL9).
- La sévérité de la maladie COVID-19 a été associée à une augmentation de C5a dans les sérums. Le facteur de complément C5a, qui est le médiateur d'une forte chimioattraction et de l'activation des cellules myéloïdes, joue des rôles bien documentés dans l'inflammation et les lésions pulmonaires. Le C5a régule l'inflammation en se liant au C5aR1 qui est fortement exprimé sur les cellules myéloïdes. Les cellules C5a et C5aR1+ ont été détectées à un niveau élevé dans les poumons des patients COVID-19 et les C5aR1+ sont associées à des lésions d'endartérite dans les poumons.
- L'avdoralimab, un anticorps monoclonal « Fc silent » entièrement humain et dirigé contre C5aR1, a été conçu pour bloquer l'activation et la migration des cellules myéloïdes induites par C5a.
- L'avdoralimab a protégé les souris possédant le C5aR1 humain des lésions pulmonaires aiguës induites par le C5a.
- L'avdoralimab a inhibé la production de facteurs pro-inflammatoires par les cellules myéloïdes de patients COVID-19 stimulées par C5a.

L'axe C5a-C5aR1 est associé à l'inflammation COVID-19 et peut favoriser le recrutement et l'activation des cellules myéloïdes dans les organes endommagés des patients COVID-19 sévères.

Publications

1. Liao M, Liu Y, Yuan J. et al. **Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19.** *Nat Med* 26, 842-844 (2020). doi.org/10.1038/s41591-020-0901.
2. Demaria O, Carvelli J, Batista L, et al. **Identification of druggable inhibitory immune checkpoints on Natural Killer cells in COVID-19.** *Cell Mol Immunol* (2020). doi: 10.1038/s41423-020-0493-9.
3. Carvelli J*, Demaria O*, Vély F*, et al. **Association of COVID-19 inflammation with activation of the C5a-C5aR1 axis.** *Nature* (2020). doi: 10.1038/s41586-020-2600-6. *These authors contributed equally.



MI-RIOT

CD146 SOLUBLE, OUTILS DIAGNOSTIQUES & CIBLES THÉRAPEUTIQUES

📍 MARSEILLE : Centre Cardiovasculaire et Nutrition - INSERM SOUTENU DEPUIS 2016

De plus, nous avons généré un anticorps monoclonal humanisé anti-CD146 soluble capable de prévenir cet échappement au bevacizumab dans un modèle préclinique de glioblastome.

Publications

- Nollet M, Stalin J, Moyon A, Traboulsi W, Essaadi A, Robert S, Malissen N, Bachelier R, Daniel L, Foucault-Bertaud A, Gaudy-Marqueste C, Lacroix R, Leroyer AS, Guillet B, Bardin N, Dignat-George F, Blot-Chabaud M. **A novel anti-CD146 antibody specifically targets cancer cells by internalizing the molecule.** *Oncotarget* 2017; 8(68):112283-112296.
- Dufies M, Nollet M, Ambrosetti D, Traboulsi W, Viotti J, Borchiellini D, Parola J, Helley-Russick D., Ravaut A, Bernhard JC, Bardin N, Dignat-George F, Rioux-Leclercq N, Oudard S, Negrier S., Ferrero JM, Chamorey E, Pagès G* and Blot-Chabaud M* **Soluble CD146 is a predictive marker of pejorative evolution and of sunitinib efficacy in clear cell renal cell carcinoma.** *Theranostics* 2018; 8(9): 2447-2458.
- Stalin J*, Traboulsi W*, Vivancos-Stalin L, Nollet M, Joshkon A, Bachelier R, Guillet B, Lacroix R, Foucault-Bertaud A, Leroyer AS, Dignat-George F, Bardin N, Blot-Chabaud M. **Therapeutic targeting of soluble CD146/MCAM with the M2J-1 monoclonal antibody prevents metastasis development and procoagulant activity in CD146-positive invasive tumors.** *Int J Cancer*. 2020;147(6):1666-1679.
- Joshkon J., Stalin, W. Traboulsi, L. Vivancos-Stalin, M. Nollet, R. Lacroix, R. Bachelier, F. Dignat-George, A. Bertaud, A.S. Leroyer, H. Fayyad-Kazan, N. Bardin, M. Blot-Chabaud. **CD146-Positive Tumors are Associated with Venous Thromboembolism A.** *Journal of Cellular Immunology* 2020 2; 3: 116-123.
- Moyon A, Garrigue P, Fernandez S, Hubert F, Balasse L, Brige P, Hache G, Nail V, Blot-Chabaud M, Dignat-George F, Rochais F, Guillet B. **Comparison of a New 68Ga-Radiolabelled PET Imaging Agent sCD146 and RGD Peptide for In Vivo Evaluation of Angiogenesis in Mouse Model of Myocardial Infarction.** *Cells*. 2021; 10(9):2305.
- Sharma A, Joshkon A, Ladjimi A, Traboulsi W, Bachelier R, Robert S, Foucault-Bertaud A, Leroyer AS, Bardin N, Somasundaram I, Blot-Chabaud M. **Soluble CD146 as a Potential Target for Preventing Triple Negative Breast Cancer MDA-MB-231 Cell Growth and Dissemination.** *Int J Mol Sci*. 2022; 23(2):974.
- Joshkon A, Tabouret E, Traboulsi W, Bachelier R, Simoncini S, Roffino S, Jiguet-Jiglaire C, Badran B, Benjamin Guillet, Foucault-Bertaud A, Leroyer A. S, Dignat-George F, Chinot O, Fayyad-Kazan H, Bardin N and Blot-Chabaud M. **Soluble CD146, a biomarker and a target for preventing resistance to anti-angiogenic therapy in glioblastoma.** *Acta Neuropathologica Communications*, sous presse.

Brevets

- Methods and kits for predicting the sensitivity of a subject suffering of renal cancer to sunitinib.** M. DUFIES, N. BARDIN, F. DIGNAT-GEORGE, G. PAGES, M. BLOT-CHABAUD. Patent number: 17305972.6-1405.
- Radiolabeled soluble CD146, preparation and uses thereof.** B. GUILLET, M. BLOT-CHABAUD, F. DIGNAT-GEORGE, P. GARRIGUE, J. STALIN, A. MOYON. Patent number: 17305198.8-1453.
- Human soluble CD146 proteins, preparation and uses thereof.** M. BLOT-CHABAUD, M. NOLLET, R. BACHELIER, N. BARDIN, F. DIGNAT-GEORGE. Patent number: 17306271.2-1410.
- Anti-CD146 antibodies and uses thereof.** M. BLOT-CHABAUD, B. GUILLET, M. NOLLET, J. STALIN, N. BARDIN, F. DIGNAT-GEORGE. Patent number: 17306348.8-1403.
- Interest of combining anti-VEGF and anti-soluble CD146 strategies to prevent escape in anti-angiogenic therapy.** M. BLOT-CHABAUD, A. JOSHKON, B. GUILLET, N. BARDIN. N°22306521.0



ERiCAN

REPROGRAMMATION EPIGÉNÉTIQUE DE LA PLASTICITÉ CELLULAIRE & DE LA RÉSILIENCE DES CANCERS

📍 LYON - GRENOBLE : INSERM - CRC Lyon - IAB Grenoble SOUTENU DEPUIS 2018

Pr Pierre HAINAUT & Pr Patrick MEHLEN

CONTEXTE

La résilience thérapeutique est la conséquence de la capacité des cellules cancéreuses à contourner l'arsenal thérapeutique grâce à leur capacité d'évolution adaptative dans leur microenvironnement. Le projet ERiCAN regroupe 15 équipes de recherche et mobilise ses forces sur 2 axes – épigénétique et plasticité cellulaire – pour décrypter les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de la résilience thérapeutique. Le programme se décline sur plusieurs pathologies basées sur des modèles précliniques exemplatifs des résistances aux thérapies ciblées et aux immunothérapies.

OBJECTIFS

- Décrypter les mécanismes moléculaires et cellulaires à l'origine de la résilience thérapeutique.
- Identifier les marqueurs de l'écosystème tumoral impliqués dans la résilience.
- Proposer des approches thérapeutiques innovantes pour contrecarrer la résilience.

RÉSULTATS

Le projet se décline en 4 thématiques dont les résultats marquants à 30 mois sont :

Modèles cellulaires et animaux innovants :

- La création d'une plateforme « organoïdes » et la mise au point de modèles cellulaires de résistance, supports d'analyses par une approche holistique (phénotypique et omiques).
- La dérivation de modèles précliniques de résistance aux thérapies ciblées (mélanome) et le développement de modèles de xénogreffes (cancer pulmonaire).

Voies moléculaires et cellulaires de la reprogrammation épigénétique des cellules cancéreuses :

- La découverte d'un facteur impliqué dans la dynamique de la chromatine avec l'identification de son rôle dans la transformation maligne.
- La reprogrammation traductionnelle par ciblage du ribosome au cours du processus de plasticité cellulaire en réponse aux chimiothérapies.
- L'exploration des mécanismes moléculaires de la programmation épigénétique impliqués dans l'échappement thérapeutique dépendant de TP53.

Reprogrammation expérimentale de la plasticité :

- L'identification de régulateurs épigénétiques qui sous-tendent la conversion phénotypique et l'hétérogénéité intra-tumorale dans le cas du mélanome.
- L'étude de la reprogrammation épigénétique de la dynamique chromatinienne.
- Le développement de stratégies expérimentales pour étudier la signalétique spatio-temporelle de la mobilité cellulaire induite par le microenvironnement tumoral.
- L'identification et le ciblage thérapeutiques de mécanismes de résistance au 5-FU médiés par les macrophages.

Intégration des données biologiques des systèmes :

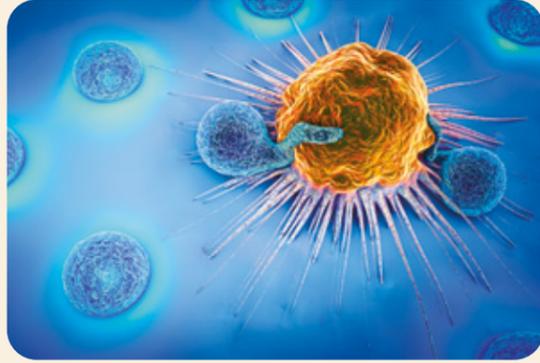
- La construction d'une première version de carte de signalisation croisée impliquée dans les résistances aux traitements par l'intégration des données biomédicales collectées.

PERSPECTIVES

ERiCAN poursuit l'étude des mécanismes de reprogrammation qui sous-tendent la conversion phénotypique des cancers vers l'acquisition de la résilience. L'intégration des différents axes, soutenue par la génération de données omiques, permet d'identifier et de proposer de nouvelles cibles pour des interventions à visée thérapeutique.

Publications

Les premières publications sont attendues dans un délai de 12 à 18 mois.



IDeATlon

CANCERS & IMMUNODÉPRESSION

PARIS : Sorbonne Université - Fondation Sorbonne Université - AHPH - INSERM
SOUTENU DEPUIS 2017

Pr Jean-Philippe SPANO, Pr Brigitte AUTRAN
& l'IDeATlon Study Group

CONTEXTE

L'étude IDeATlon est un programme pluridisciplinaire de recherche translationnelle recherchant de nouveaux biomarqueurs immuno-moléculaires dans des tumeurs rares survenant dans un environnement immunodéprimé (infection VIH ou transplantation) ou dans des tissus cérébraux quasi dépourvus de système immunitaire.

OBJECTIFS

Les objectifs sont d'améliorer la compréhension du contrôle immunitaire de ces tumeurs, de fournir de nouveaux marqueurs diagnostiques et pronostiques d'efficacité thérapeutique, de survie ou de résistance aux traitements, ainsi que de nouvelles cibles moléculaires de stratégies thérapeutiques potentielles et de générer un nouveau modèle prédictif de réponse à l'immunothérapie. Il est prévu d'inclure 215 patients atteints de lymphomes non-hodgkiniens (LNH), de cancers bronchiques non à petites cellules (NSCLC) ou de gliomes. L'étude ouverte se poursuit jusqu'à fin 2022.

RÉSULTATS

Nous avons développé trois processus d'analyse : 1) moléculaire par séquençage tumoral à haut débit de l'exome entier (WES) comparé au génome constitutionnel et de l'ARN (RNAseq) et par séquençage du génome des cellules tumorales circulantes ; 2) bio-informatique (Ideation@SiRIC) subdivisé en 3 pipelines adaptés aux 3 axes majeurs : caractérisation des biomarqueurs tumoraux (mutations somatiques / charge mutationnelle), prédiction des néo-antigènes tumoraux et analyse des données d'ADN tumoral circulant ou de cellules tumorales circulantes ; 3) immunologique par étude fonctionnelle de la réactivité des lymphocytes de patients vis-à-vis des peptides correspondants aux neo-antigènes tumoraux autologues prédits.

1. L'analyse bio-informatique des données WES (WES-workflow) générant la liste de variants somatiques annotés permet d'identifier les gènes mutés par patient ainsi que le calcul de la charge mutationnelle tumorale (CMT) comparée aux différents cancers décrits dans TCGA et la signature mutationnelle selon Alexandrov par tumeur. Le pipeline intègre également l'analyse des CNV (Copy Number Variation) afin d'identifier des amplifications et pertes de grande taille ainsi que le calcul de la

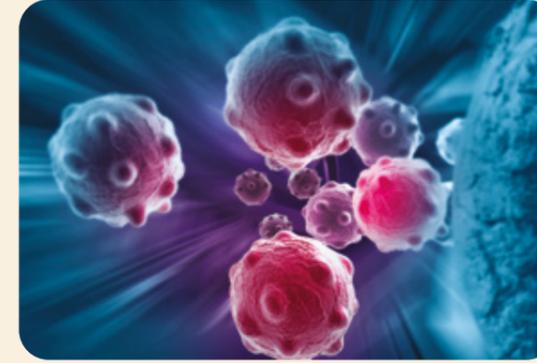
pléïdie et la pureté des tumeurs étudiées permettant l'inférence de la clonalité des variants somatiques. Ce WES-workflow a permis l'analyse de 129 tumeurs séquencées à ce jour. L'étude de la CMT a permis de distinguer dans les LNH une charge mutationnelle plus élevée dans le groupe EBV- comparé au groupe EBV+ indépendamment du statut immunologique et de préciser ainsi les résultats précédemment suggérés par du séquençage ciblé. Par ailleurs, nous avons mis en évidence un profil mutationnel différent en fonction du statut EBV des LNH. Enfin, l'analyse du micro-environnement tumoral est effectuée à l'aide des données RNA pour évaluer la proportion des différents types cellulaires, la diversité et la distribution du répertoire T intra-tumoral et l'expression d'un panel de gènes impliqués dans la réponse immunitaire locale.

2. Le pipeline de prédiction des néo-épitopes ou d'antigènes spécifiques de tumeurs (TSA-workflow) combine l'analyse des mutations somatiques à partir de l'ADN et l'expression des allèles mutés et des locus HLA à partir de l'ARN. Nous avons déjà prédit et identifié à l'aide du TSA workflow, 1750 néo-épitopes pour 40 tumeurs (19 gliomes, 15 LNH et 6 NSCLC) ; les peptides correspondants ont été synthétisés (de 5 à 60 néo-épitopes par patient) et ont fait l'objet d'une validation fonctionnelle. Des réponses T spécifiques de néo-épitopes tumoraux étaient détectables chez 72% des patients malgré le contexte d'immunosuppression ou de localisation cérébrale, dirigées majoritairement contre des néo-épitopes présentés par le CMH2. La prédiction des autres néo-épitopes est en cours.

3. Estimation de la fraction tumorale circulante : ce pipeline analyse des données de Whole Genome Sequencing à faible couverture (LC-WGS) et permet l'identification de CNV et l'estimation de la pléïdie et de la fraction tumorale dans le plasma. Ce workflow permet de détecter la présence d'ADN tumoral circulant dans le sang périphérique des patients afin de lancer des expériences en aval à partir du plasma. 84 LC-WGS ont été analysés. Les résultats montrent que 6 échantillons présentent une fraction tumorale supérieure à 10% dont 5 correspondent à des LNH et 1 à un NSCLC¹.

Publications

1. Bouzidi A, Labreche K, Baron M, Veyri M, Denis JA, Touat M, Sanson M, Davi F, Guillemet E, Jouannet S, Charlotte F, Bielle F, Choquet S, Boëlle P-Y, Cadranet J, Leblond V, Autran B, Lacorte J-M, Spano J-P, Coulet F, and the IDEATION study group (2021) **Low-Coverage Whole Genome Sequencing of Cell-Free DNA From Immunosuppressed Cancer Patients Enables Tumor Fraction Determination and Reveals Relevant Copy Number Alterations.** Front. Cell Dev. Biol. 9:661272. doi: 10.3389/fcell.2021.661272.
2. M. Baron, K. Labreche, A. Bouzidi, M. Veyri, N. Désiré, V. Leblond, F. Coulet, P-Y. Boëlle, F. Seck-Thiam, D. Roos-Weil, F. Charlotte, F. Davi, E. Poullot, A. Rousseau, C. Haioun, J-P. Spano, B. Autran, S. Choquet, A. Guihot, and the Ideation Study group. **EBV dictates lower tumor neoepitopes scores and intra-tumoral repertoire diversity in NHL from immunocompromised patients.** Résumé accepté à l'oral à l'ASH 2022.



HEART

TUMEURS RARES ET MÉDECINE PERSONNALISÉE

BORDEAUX : Institut BERGONIE
SOUTENU DEPUIS 2017

Pr Antoine ITALIANO

CONTEXTE

Les cancers rares appartiennent au groupe des maladies rares, habituellement définies comme des maladies avec une fréquence de moins de 50/100,000.

Même quand ces tumeurs sont définies d'une manière plus conservatrice, en prenant en compte quelques particularités (par exemple en choisissant des cancers avec une incidence autour ou inférieure à 5/100,000/année), les cancers rares représentent environ 20% de tous les cas de néoplasies malignes.

La survie des patients avec des cancers rares est significativement plus mauvaise que celle de patients avec des cancers plus fréquents.

OBJECTIFS

Évaluer la proportion de patients avec une tumeur rare à un stade avancé présentant au moins une altération génomique ciblée, telle que définie dans le protocole de l'étude.

DESIGN DU PROJET

- HEART est une étude multicentrique conçue pour identifier des altérations moléculaires actionnables dans les cancers rares à un stade avancé.
- Sera réalisé dans cette étude un séquençage à haut débit nouvelle génération.

Les Patients inclus dans le projet HEART, chez qui une modification génomique ciblée aura été identifiée, pourront par la suite être inclus dans un essai clinique, évaluant l'intérêt d'une thérapie ciblée.

Les données génétiques et cliniques seront intégrées dans une base de données spécifique permettant de rechercher et d'établir une corrélation entre les données cliniques avec le profil génétique.

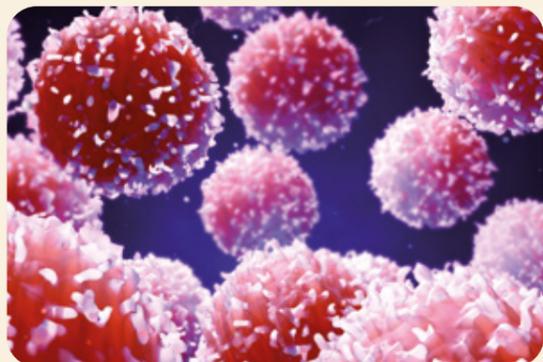
RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES

Au 31 décembre 2020, 574 patients ont été inclus dans l'étude.

- Une altération génétique actionnable a été identifiée chez 290 patients (50.5%).
- 215 patients (37.5%) ont reçu une thérapie correspondant à cette altération, le plus souvent dans le cadre d'un essai clinique.

Publication

Brunet M., Khalifa E., Italiano A. **Enabling Precision Medicine for Rare Head and Neck Tumors: The Example of BRAF/MEK Targeting in Patients With Metastatic Ameloblastoma.** Front Oncol. 2019;9:1204.



IMMANENCE

COMPLEXITÉ DU CONTEXTE IMMUNITAIRE DES CANCERS ORL

📍 **TOULOUSE** : Centre de recherche en cancérologie & Institut universitaire du cancer - ONCOPOLE. **SOUTENU DEPUIS 2018**

Pr Maha AYYOUB & Pr Jean-Pierre DELORD

CONTEXTE & OBJECTIFS

600 000 patients dans le monde et 19 000 en France sont diagnostiqués chaque année avec un carcinome épidermoïde de la tête et du cou (cancer ORL). La majorité des patients présentent une maladie localement avancée au diagnostic, et plus de 50% récidiveront dans les 3 ans. Pour ceux qui connaissent une progression dans les 6 mois après traitement par chimiothérapie à base de sels de platine de la maladie primaire ou de la récurrence, la survie médiane ne dépasse pas 6 mois. L'immunothérapie par anticorps anti-PD-1/PD-L1 pour le traitement des cancers ORL réfractaires au platine a montré une prolongation de la survie globale et a conduit à l'inclusion de l'immunothérapie dans la prise en charge de ces cancers. Malgré cette avancée majeure, seule une proportion des patients répond à l'immunothérapie. Dans le but de contribuer à l'appréciation des mécanismes de résistance des cancers ORL à l'immunothérapie, le projet IMMANENCE a le double objectif :

- de comprendre les réseaux complexes d'épuisement lymphocytaire au site tumoral,
- d'analyser la réponse T spécifique de l'ensemble des antigènes tumoraux exprimés par la tumeur et son rôle dans la réponse aux immunothérapies.

RÉSULTATS

Par des approches phénotypiques, fonctionnelles et transcriptomiques, nous avons étudié l'expression des points de contrôle immunitaire (PCI), dont PD-1, dans les lymphocytes T CD8 et CD4 au site tumoral, les mécanismes conduisant à leur expression et de la capacité des lymphocytes PCI+ à répondre *in vitro* aux anticorps bloquants anti-PD-1. Nous avons identifié une population de lymphocytes T CD8 épuisés, spécifiques de la tumeur et répondeurs aux anti-PD-1 *in vitro*. Nous avons montré que la proportion de ces lymphocytes dans les tumeurs ORL était prédictive de la réponse clinique à l'immunothérapie par blocage de l'axe PD-1/PD-L1 (Balança CC *et al.*, Cancer Immunol Res. 2020). Au vu de leur cytotoxicité directe vis-à-vis des cellules tumorales, les lymphocytes T CD8 ont été au centre des études sur l'immunité adaptative anti-tumorale. Cependant, nos travaux et ceux d'autres laboratoires montrent que des lymphocytes T CD4 spécifiques des antigènes sont présents à des fréquences élevées au site tumoral suggérant leur implication dans la phase effectrice de la réponse

anti-tumorale. La caractérisation des lymphocytes T CD4 infiltrant les tumeurs nous a permis d'identifier une population de cellules épuisées, partageant une partie du programme d'épuisement de lymphocytes T CD8. *In vitro*, le blocage de PD-1 a amélioré l'activation des lymphocytes T CD4 épuisés conduisant à la maturation des cellules dendritiques et à la prolifération des lymphocytes T CD8 anti-tumoraux. Nos données identifient l'épuisement des lymphocytes T CD4 infiltrant la tumeur comme un acteur de la réponse aux PCI (Balança CC *et al.*, JCI Insight 2021).

PERSPECTIVES

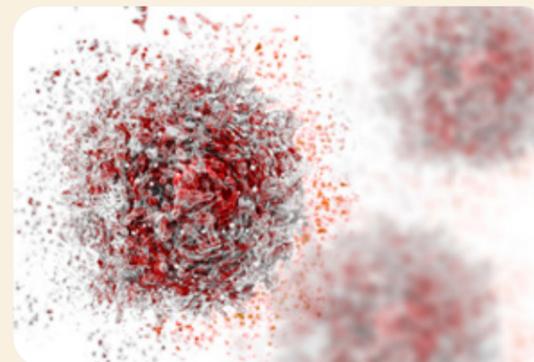
Dans la ligne directe des travaux présentés ci-dessus, nous poursuivons :

- la caractérisation des lymphocytes T épuisés spécifiques des antigènes tumoraux dans la circulation en vue de leur utilisation comme marqueurs de la réponse à l'immunothérapie,
- et nous avons développé des modèles murins orthotopiques de cancer ORL afin d'investiguer les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent l'acquisition de l'épuisement par les lymphocytes T anti-tumoraux.

Nous avons également commencé les travaux destinés à répondre aux questions posées dans le 2^{ème} objectif du projet. Pour cela, dans le cadre du protocole MINER (Monitor ImmuNothERapy, NCT03514368), nous avons constitué, durant les deux premières années du projet, une cohorte prospective de 25 patients porteurs de tumeurs ORL et traités par anti-PD-1/PD-L1 dont nous avons collecté des échantillons tumoraux avant thérapie, des échantillons sanguins longitudinaux ainsi que les données cliniques. Nous avons séquencé les exomes totaux germinaux et tumoraux ainsi que les ARN tumoraux. Des analyses bio-informatiques en cours permettront de déterminer l'ensemble des antigènes exprimés par la tumeur de chaque patient. Nous allons débiter l'analyse personnalisée de la réponse T spécifique de ces antigènes tumoraux afin de comprendre le rôle de la réponse adaptative T préexistante dans la réponse clinique aux immunothérapies.

Publications

1. Balança C.-C., *et al.* **Dual Relief of T-lymphocyte Proliferation and Effector Function Underlies Response to PD-1 Blockade in Epithelial Malignancies.** Cancer Immunology Research. 2020, 8: 869–882.
2. Balança C.-C., *et al.* **PD-1 blockade restores helper activity of tumor-infiltrating, exhausted PD-1hiCD39+ CD4 T cells.** JCI Insight. 2021, 6(2):e142513.



IMMUNOME

THE HUMAN CANCER IMMUNOME

📍 **PARIS** : Institut Gustave Roussy
SOUTENU DEPUIS 2018

Aurélien MARABELLE (coordinateur clinique)
& Laurence ZITVOGEL (coordinatrice scientifique)

CONTEXTE

Les thérapies ciblant les tumeurs et le système immunitaire ont révolutionné la façon dont nous comprenons la biologie des cancers et la façon dont nous traitons les patients. Alors que de nombreuses recherches ont été menées au cours des deux dernières décennies afin de décrypter les mécanismes génomiques à l'origine des cancers au niveau somatique et germinale, une approche descriptive et mécanistique similaire reste à faire du côté du microenvironnement tumoral afin de décrire les multiples voies immunosuppressives présentes dans les cancers.

OBJECTIFS

Le projet HUMAN CANCER IMMUNOME a pour vocation de décrire l'infiltrat immunitaire de 4 types de tumeurs solides (foie, vessie, ORL et poumons), afin de mieux comprendre quelles voies immunosuppressives sont impliquées dans l'inhibition de la réponse anti-tumorale et la résistance aux immunothérapies.

RÉSULTATS

Nous avons mis en place, avec les hôpitaux Paul Brousse, Marie Lannelongue, Foch et le service d'anatomopathologie de Gustave Roussy, des collaborations visant à collecter des pièces chirurgicales ou des biopsies. Ces prélèvements sont analysés grâce à diverses technologies, comme le séquençage ARN et/ou ADN, la cytométrie de flux/masse, l'immuno-marquage multiplex sur tissus. Depuis le début du projet, plus de 250 spécimens ont été collectés et analysés. Nous avons développé nos recherches à travers 5 axes :

- Le 1^{er} consiste à décrire l'infiltrat immunitaire des 4 types histologiques à des stades précoces ou localement avancés. Nous avons réalisé par cytométrie de flux une caractérisation élémentaire mais aussi plus spécifique des lymphocytes T régulateurs (Treg) avec pour objectif d'identifier des marqueurs spécifiques de Treg intra-tumoraux, futures cibles potentielles d'immunothérapies.
- Le 2^e axe vise à analyser prospectivement l'infiltrat immunitaire hépatique extra-, péri- et intra-tumoral par cytométrie de flux pour mieux comprendre le lien entre la composition de l'infiltrat immunitaire et la physiopathologie du carcinome hépatocellulaire.

- Le 3^e axe repose sur la caractérisation de l'infiltrat immunitaire des cancers oraux et laryngés par immuno-marquages multiplex. Nous analysons une cohorte de 146 patients pour lesquels nous avons accès à la pièce de résection et aux ganglions métastatiques appariés. Nous effectuons une analyse semi-quantitative et qualitative des infiltrats immunitaires tumoraux et du stroma afin de déterminer s'il existe un lien entre le pronostic de la maladie et l'intensité et l'homogénéité de l'infiltrat immunitaire.
- Le 4^e axe vise à mieux comprendre les mécanismes de dissémination métastatique dans le cancer du poumon. Le transcriptome de pièces chirurgicales de tumeurs primitives et sans métastases ganglionnaires sont analysées parallèlement à des tumeurs primitives et à leurs ganglions métastatiques appariés (essai LungART (NCT00410683)).
- Le 5^e et dernier axe ambitionne d'identifier les mécanismes de résistance aux immunothérapies grâce à l'analyse d'échantillons prélevés dans le cadre d'essais cliniques à promotion Gustave Roussy ou Unicancer : MatchR (NCT02517892), Hipaniv (NCT048234), Pandore (NCT03212651) et ImmuneBoost-HPV (NCT03838263). Une cohorte rétrospective nous a permis d'étudier les mécanismes de résistances au BCG intravésical dans les cancers de vessie.

WHAT'S NEW ?

Nous avons démontré que les cibles des nouvelles immunothérapies (4-1BB, ICOS, OX40, TIGIT) sont principalement exprimées par les Treg comparativement aux lymphocytes T anti-tumoraux, pouvant possiblement expliquer l'échec clinique de ces nouveaux anticorps thérapeutiques.

Publications

1. Rouanne M, Adam J, Radulescu C, Letourneur D, *et al.* **BCG therapy downregulates HLA-I on malignant cells to subvert antitumor immune responses in bladder cancer.** J Clin Invest. 2022 Jun 15;132(12):e145666. doi: 10.1172/JCI145666.
2. Bonvalet M, Danlos FX, Champiat S, Rouanne M, Marabelle A. **Cancer immunotherapy efficacy is driven by tumour biology, not by its histology. Impact on drug development and approvals.** Eur J Cancer. 2022 Feb;162:130-132. doi: 10.1016/j.ejca.2021.12.004. Epub 2022 Jan 1. PMID: 34983015.
3. Goubet A-G, Lordello L, Alves Costa Silva C, PEGUILLET I, Gazzano M, *et al.* **Escherichia coli-specific CXCL13-producing TFH are associated with clinical efficacy of neoadjuvant PD-1 blockade against muscle-invasive bladder cancer.** Cancer Discov. 2022;1-28.
4. Bredel D, Thic E, Mouraud S *et al.* **Immune Checkpoints are Predominantly Co-Expressed by Clonally Expanded CD4+FoxP3+ Intratumoral T-cells in Primary Human Cancers.** 21 July 2023, PREPRINT (Version 1) available at Research Square [https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3171786/v1] Accepted pour publication dans Journal of Experimental & Clinical Cancer Research (Manuscript #JECC-D-23-01547R1).
5. Alves Costa Silva C, Piccinno G, Bourgin M, Suissa D, *et al.* **Microbiota-associated metabolic reprogramming influenced clinical outcome in the randomized dendritic cell-based clinical trial in stage III melanoma.** 16 May 2023, PREPRINT (Version 1) available at Research Square [https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2924093/v1].



MICCHADO OSTEOSARCOMA

CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE ET IMMUNOLOGIQUE
DES CANCERS PÉDIATRIQUES À HAUT RISQUE,
AU DIAGNOSTIC, PENDANT LE TRAITEMENT & LE SUIVI

PARIS : Institut Curie. SOUTENU DEPUIS 2018

Guidrun SCHLEIERMACHER (Porteur de projet, Institut Curie)
Alexandra SAINT CHARLES (Institut Curie),
Nadège CORRADINI (Centre Léon Bérard),
Claudia PASQUALINI (Gustave Roussy)

CONTEXTE

Évaluations biologiques chez l'enfant, l'adolescent et le jeune adulte atteints d'ostéosarcomes.

À ce jour, 80% des enfants, des adolescents et des jeunes adultes diagnostiqués avec une tumeur maligne survivront, mais 20% ne peuvent pas être guéris. De plus, la survie est peut-être associée à des séquelles liées aux traitements.

L'ostéosarcome, un cancer de point de départ osseux le plus souvent observé chez les adolescents et les jeunes adultes, est un cancer avec un risque élevé de développement de métastases pulmonaires. Les ostéosarcomes de haut grade sont généralement traités par chimiothérapie préopératoire, chirurgie puis chimiothérapie postopératoire. Le traitement standard actuel conduit à une survie sans maladie à long terme chez environ 60% des patients atteints d'une maladie localisée, versus 20-30% chez les patients présentant des métastases primaires ou des tumeurs de localisation axiale. La réponse histologique à la chimiothérapie préopératoire est apparue comme un indicateur pronostique indépendant pour le contrôle local et systémique. Les nouveaux agents n'ont pas conduit à des changements de normes de traitement universellement acceptés. Seules des connaissances accrues sur la biologie de l'ostéosarcome mèneront à de nouvelles approches thérapeutiques efficaces et permettront d'augmenter la survie de ces patients.

OBJECTIFS

Le protocole nationale MICCHADO vise à réaliser des analyses biologiques chez des patients pédiatriques / adolescents / jeunes

adultes diagnostiqués avec des cancers à haut risque afin de mieux comprendre les altérations génétiques et immunologiques moléculaires caractérisant ces tumeurs, leur évolution dans le temps, le rôle de ces découvertes moléculaires dans les tumeurs la progression et la résistance au traitement, et ainsi, d'améliorer le diagnostic, et la gestion thérapeutique par l'identification de biomarqueurs de pronostic et de cibles thérapeutiques potentielles.

L'étude MICCHADO-OSTEOSARCOMA concerne les patients atteints d'un ostéosarcome inclus dans le programme MICCHADO.

L'objectif principal de l'étude est d'identifier et caractériser chez des enfants, adolescents et jeunes adultes atteints d'un ostéosarcome de haut risque :

- les altérations moléculaires génétiques d'intérêts,
- les caractéristiques immunologiques significatives, au diagnostic, pendant le traitement et le suivi du patient (suivi dans le temps).

L'étude a également les objectifs secondaires suivants chez des enfants, adolescents et jeunes adultes atteints d'un ostéosarcome de haut risque :

- Caractériser des biomarqueurs suite aux analyses de biologie moléculaire des échantillons tumoraux au diagnostic, à des fins pronostiques et prédictives.
- Caractériser le microenvironnement tumoral et le profil immunologique de l'hôte, à des fins pronostiques et prédictives.
- Identifier des biomarqueurs pronostiques et prédictifs potentiels sur les échantillons prélevés lors du traitement et du suivi du patient, en fonction des changements, détectés par les techniques de biologie moléculaire sur le ctDNA et sur les résultats immunologiques.
- Investiguer l'impact du microenvironnement de la tumeur et du profil immunologique de l'hôte sur la stratification / classification du risque de la maladie au diagnostic, par comparaison des patients ayant des métastases avec ceux ayant une atteinte localisée.
- Comparer les résultats moléculaires et immunologiques au diagnostic et pendant le traitement (intégration des données).

RÉSULTATS

A la date du 15 septembre 2022, 479 patients ont été inclus dans l'étude MICCHADO dans 30 centres de la SFCE (Société Française de Lutte contre les cancers et les leucémies de l'enfant et de l'adolescent) ; 81 d'entre eux sont atteints d'ostéosarcome (28 patients cohorte 1 et 53 patients cohorte 3). Ayant atteint les objectifs d'inclusion pour les ostéosarcomes de la cohorte 3, l'étude a été fermée aux inclusions pour ces patients.

Pour ces 81 patients atteints d'ostéosarcomes, les analyses en biologie moléculaire et les analyses immunologiques sont actuellement en cours, sur les plateformes participants (I Curie, CLB et Gustave Roussy). Ces analyses moléculaires se focalisent sur des analyses en WES (tumeur et germline), RNAseq et surtout l'ADN circulant en WES, permettant une caractérisation de l'ensemble des altérations génétiques au diagnostic, pendant le traitement ainsi qu'une analyse de l'évolution clonale en cas de progression ou de récurrence. Les analyses immunologiques portent sur une immunohistochimie, sur le prélèvement tumoral, ainsi qu'une description des populations cellulaires par analyse de FACS.

MICCHADO est un projet de recherche et il a été convenu que les résultats des analyses ne seraient pas rendus au médecin / patient. Néanmoins les résultats pourront être rendus dans des situations particulières telles qu'une maladie réfractaire ou une rechute nécessitant une connaissance des altérations moléculaires ciblables, ou encore un contexte de possibles syndromes de prédisposition. A ce jour, 93 demandes de rendu de résultats au clinicien ont été formulées et approuvées par le comité de pilotage de MICCHADO, dont 7 cas d'ostéosarcome. D'après les premiers cas présentés en Molecular Tumor Board, les altérations les plus fréquemment retrouvées sont des altérations somatiques/théranostiques présentes dans les gènes : TP53, MYCN, ALK, EGFR, pour l'ensemble des patients. MICCHADO permet l'étude des altérations génétiques de cancers pédiatriques au diagnostic et s'intègre donc pour cet aspect dans la stratégie globale de la médecine de précision. L'ensemble des données générées et

corrélées dans MICCHADO permettra de mettre en évidence des informations cruciales lorsque l'on considère la possibilité d'adapter des traitements de première ligne.

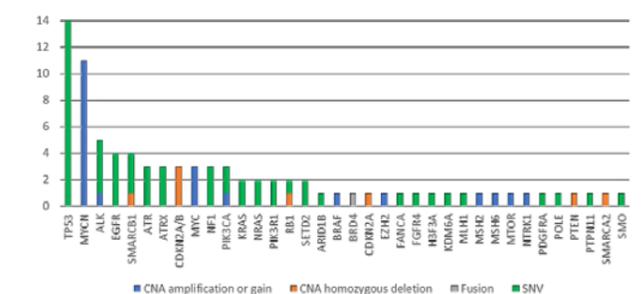
CONCLUSION

Un élément important dans le programme MICCHADO est la collaboration avec les différents comités de la SFCE, ce qui nous permet de :

- Contribuer aux discussions scientifiques autour des résultats d'analyses spécifiques.
- Valider avec le comité de pilotage de MICCHADO les demandes de rendu de résultats d'analyse aux cliniciens.
- Discuter ensemble des interactions et des échanges de données ou d'échantillons dans les situations où des protocoles cliniques porteraient sur des analyses similaires, mais avec des objectifs différents de celui de l'étude.

MICCHADO-Ostéosarcome est réalisé en étroite collaboration avec le protocole Sarcome 13, et les données contribueront à la mise en place de la base de données portant sur les patients atteints d'un ostéosarcome BOOST-data.

Altérations somatiques/théranostiques de patients analysés à la suite d'une demande de rendu de résultats.





IMMUNOTET

EXPLORATION DE L'ENVIRONNEMENT IMMUNITAIRE DES TUMEURS ÉPITHÉLIALES THYMIQUES (TETS)

PARIS : Institut Curie
SOUTENU DEPUIS 2022

Pr Nicolas GIRARD

CONTEXTE

Les TETs sont des tumeurs rares intrathoraciques qui se développent au dépend du médiastin antérieur. Ces tumeurs surviennent vers l'âge de 50 ans, sans étiologie retrouvée. Au diagnostic une maladie auto-immune est associée dans un tiers des cas (principalement la myasthénie). Le traitement de référence de ces tumeurs consiste en la chirurgie d'exérèse complète, mais dans 30% des cas les patients rechutent et il n'existe pas de traitement systémique qui permettent un contrôle optimal de la pathologie dans les suites. L'immunothérapie au stade métastatique a été proposée dans des essais cliniques avec cependant une toxicité sévère et la survenue de maladies auto-immunes. Ces tumeurs rares ont été peu explorées.

OBJECTIFS

L'objectif de IMMUNO-TET-2 est triple :

- **Objectif 1** : Décrire le microenvironnement immunitaire des TETs avec une attention particulière apportée aux lymphocytes T : anti-tumoraux ou responsables d'auto-immunité, ou en transit dans le contexte de la thymopoïèse dans le cadre du fonctionnement de la glande thymique.
- **Objectif 2** : Caractériser sur le plan moléculaire somatiques ces tumeurs en appliquant la technique du séquençage de l'exome et de l'ARN. Nous prévoyons aussi une analyse moléculaire constitutionnelle afin de rechercher une prédisposition génétique au développement de ces pathologies.
- **Objectif 3** : développer un modèle préclinique de souris PDX pour leur administrer pendant 12 semaines une thérapeutique issue de nos résultats des objectifs #1 et #2. Ce sera aussi l'occasion de développer des modèles murins de TETs qui n'ont jusqu'alors pas été développés de façon robuste.

RÉSULTATS

Les résultats que nous pouvons présenter à ce stade sont les résultats préliminaires de l'Objectif 1. Avec la technique de cytométrie de flux, nous avons montré la présence d'une population de lymphocytes T double positifs dans 62% (8/13) des cas, versus 55% (6/11) versus

15% (2/13) dans la population de CD45+ respectivement dans nos échantillons tumoraux versus juxta-tumoraux versus distant. Ce qui est en faveur de la présence d'un mécanisme de thymopoïèse au contact de la tumeur elle-même en cas de thymome.

Par ailleurs, nos résultats préliminaires du transcriptome sur cellules uniques (analyse du TCR des cellules T ainsi que du transcriptome des cellules T de l'environnement immunitaire des thymomes) confirment : d'une part la présence d'une thymopoïèse active ; et d'autre part la présence de potentiel lymphocytes T CD8 matures spécifiques de la tumeur exprimant PD1+CD39+ et CD69+ avec une oligoclonalité importante.

Nous prévoyons de continuer nos explorations pour identifier les populations de lymphocytes T présents dans les thymomes et leurs fonctions. Leur rôle dans le développement tumoral, ou la présence d'auto-immunité chez nos patients étant notre questionnement principal.

En parallèle, nous avons un premier succès de modèle PDX de thymome (pousse après 11 mois d'observation), avec 20% de taux de succès. Il s'agit d'un thymome B2 porteur d'une mutation NRAS. Le marquage en immunohistochimie des centromères humains confirme l'origine humaine de la tumeur en développement sur le modèle. Ce succès à réitérer va nous permettre de développer une cohorte de modèles PDX pour l'Objectif 3.

Publications

1. **Non canonical splicing junctions between exons and transposable elements represent a source of immunogenic recurrent neo-antigens in patients with lung cancer.** Merlotti A, Sadacca B, Arribas YA, Ngoma M, Burbage M, Goudot C, Houy A, Rocanin-Arjo A, Lalanne A, Seguin-Givelet A, Lefevre M, Heurtebisse-Chretien S, Baudon B, Oliveira G, Loew D, Carrascal M, We CJ, Lantz O, Stern MH, Girard N, Waterfall JJ, Amigorena S. *Sci Immunol.* 2023 Feb
2. **Ex vivo quantification of anti-tumor T-cell activity upon anti-PD-1 treatment in patient-derived lung tumor-on-chip.** Irina Veith, Arianna Mencattini, Martin Nurmik, Isanelle Damei, Christine Lansche, Solenn Brosseau, Giacomo Griplera, Séphanie Corgnac, Joanna Filippi, Nicolas Poté, Pierre Mordant, Jimela Tosello, Christine Sedlik, Eliane Piaggio, Nicolas Girard, Jacques Camonis, Hamasseh Shirvani, Fathia Mami-Chouaib, Fatima Mechta-Grigoriou, Stéphanie Descroix, Eugenio Martinelli, Gérard Zalzman, Maria Carla Parrini. *BioRxiv.*
3. **Contribution of resident and circulating precursors to tumor-infiltrating CD8+ T cell population in lung cancer.** Gueguen P, Metoikidou C, Dupic T, Lawand M, Goudot C, Baulande S, Lameiras S, Lantz O, Girard N, Seguin-Givelet A, Lefevre M, Mora T, Walczak AM, Waterfall JJ, Amigorena S. *Sci Immunol.* 2021 Jan 29;6(55):eabds5578.
4. **High in vitro and in vivo synergistic activity between mTORC1 and PLK1 inhibition in adenocarcinoma NSCLC.** Elodie Montaudon, Rania El Botty, Sophie Vacher, Olivier Déas, Adnan Naguez, Sophie Chateau-Joubert, Damien Treguer, Ludmilla de Plater, Leila Zemoura, Fariba Némati, André Nicolas, Alain Chapelier, Alain Livartowski, Stefano Cairo, Catherine Daniel, Marie Brevet, Elisabetta Marangoni, Didier Meseure, Sergio Roman-Roman, Ivan Bieche, Nicolas Girard, and Didier Decaudin. *Oncotarget* 2021 Apr 13; 12(8): 859–872.



RNAcan!

SCAFFOLDING RNAS IN CANCER BIOLOGY

MONTPELLIER : CNRS DR Occitanie-Est - Institut de génomique humaine (IGH)
SOUTENU DEPUIS 2022

Dr Edouard BERTRAND & Dr Martine SIMONELIG

CONTEXTE

RNA therapeutics in cancer

RNA has held long-standing hopes for human medicine and the recent implementation of RNA vaccines has demonstrated their incredible potential in a spectacular manner. The labile nature of RNAs, their lack of integration in the genome and their poor immunogenicity make them safe, while their versatility as coding and non-coding molecules opens their use to virtually any disease. RNAs can be used as biomarkers to detect a disease, as targets to alter a process or an 'undruggable' protein, or directly as a therapeutic molecules. In this project, we concentrate on an entirely new function of RNA molecules in scaffolding large molecular assemblies driving cell compartmentalization. In the last few years, the formation of molecular condensates has emerged as a fundamental mechanism for cell compartmentalization and consequently, for cell life. Biological condensates form by phase separation involving demixing, i.e. the formation of a liquid droplet separated from the cellular milieu. This process is driven via multivalent interactions between the droplet components, which allows their aggregation when their concentration reaches a critical threshold. An important feature of various condensates is that RNA plays an essential role in their formation. Here, we propose that RNAs could play a general role in cellular compartmentalization by controlling the formation of many cellular condensates. We are testing this new vision of RNA molecules as general cellular scaffolders.

OBJECTIFS

Starting from the hypothesis that RNAs are general scaffolding molecules that drive cell compartmentalization at a scale unsuspected before, our project aims to demonstrate this paradigm shifting hypothesis and determine how aberrant RNA-driven cell compartmentalization leads to cancer. We have recently discovered several large molecular assemblies for which we suspect an essential role of RNAs in their formation. These assemblies function in DNA repair, splicing and translation, three cellular processes that play major roles in cancer.

Taking advantage of these three cellular processes in which the scaffolding role of RNA is emerging, we aim to unravel the general functional principles of RNA-driven compartmentalization, following four specific objectives: 1) To identify new RNA-based compartments and scaffolding RNAs; 2) To decipher their roles in DNA repair, splicing and translation; 3) To characterize the mechanisms of RNA-driven compartmentation; and 4) To unravel the roles of scaffolding RNAs during cancer progression. This project will provide a new vision of the role of RNAs in cancer biology and open new possibilities to fight cancer.

RÉSULTATS

DNA repair: We showed that the Fanconi anemia protein SLX4 forms globular clusters of condensates on chromatin that compartmentalize DNA damage response proteins. Compartmentalization of the SUMO/RNF4 pathway by SLX4 triggers the extraction of topoisomerase 1-DNA-protein cross-links from chromatin and the degradation of nascent DNA (1, 2). Investigations into the role of RNA in the scaffolding of SLX4 condensates are underway.

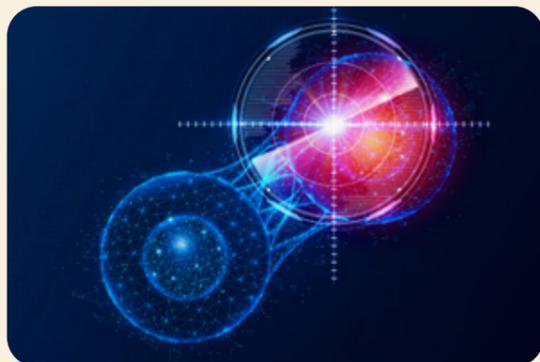
Splicing: 11% of the alternatively spliced genes regulated during the epithelial-to-mesenchymal transition are differentially enriched in H3K27ac and CTCF, which are two hallmarks of enhancer sequences. Using chromosome conformational capture assays (4C-seq and microC), we have uncovered a 3D higher-order genome organization in which alternatively spliced exons physically interact with long distant regions important for the final splicing outcome.

Translation: Germ granules are specific RNA granules that contain ~200 mRNAs and specify the germline. Using these granules as a model of cytoplasmic RNA granules we found that they are biphasic -composed of two immiscible phases- and that translation occurs in the outer phase, while translational repression takes place in the internal phase. Moreover, RNA recruitment to the granules is required for their biphasic architecture. These results reveal a key role of RNA and the biphasic organization in the compartmentalization of RNA granule functions (3).

In another study we analyzed the key oncogene β -catenin that is regulated post-translationally by the destruction complex composed of Axin and the tumor suppressor APC. Using RNA immunoprecipitation and advanced microscopy, we found that the destruction complex acts co-translationally and that co-translational interactions take place in dedicated compartments formed by the condensation of β -catenin polysomes by the destruction complex. Interestingly, inhibition of these co-translational interactions prevents the tumor suppressing activity of the destruction complex towards β -catenin.

Publications

1. Alghoul E, Paloni M, Takedachi A, Urbach S, Barducci A, Gaillard P-H, Basbous J, Constantinou A. **Compartmentalization of the SUMO/RNF4 pathway by SLX4 drives DNA repair.** *Molecular Cell.* 2023; 83(10):1640-58. doi: 10.1016/j.molcel.2023.03.021. PubMed PMID: 37059091.
2. Alghoul E, Basbous J, Constantinou A. **Compartmentalization of the DNA damage response: Mechanisms and functions.** *DNA Repair.* 2023; 128:103524. doi: 10.1016/j.dnarep.2023.103524. PubMed PMID: 37320957.
3. Ramat A, Haidar A, Garret C, Simonelig M. **Germ granule higher-order organization coordinates their different functions.** *bioRxiv* 2023. doi: https://doi.org/10.1101/2023.11.24.568558.
4. Bellec M, Chen R, Dhayni J, Favard C, Trullo A, Lenden-Hasse H, Lehmann R, Bertrand E, Lagha M, Dufourt J. **Boosting the toolbox for live imaging of translation.** *bioRxiv* 2023. doi: https://doi.org/10.1101/2023.02.25.529998.



IntraCISH-LT γ δ

CIBLER ET IDENTIFIER LES PROTÉINES INHIBITRICES INTRACELLULAIRES DE SIGNALISATION DES LYMPHOCYTES CYTOTOXIQUES T γ δ POUR UN BÉNÉFICE EN IMMUNOTHÉRAPIE

📍 MARSEILLE : Institut Paoli-Calmettes - Centre de Recherche en Cancérologie SOUTENU DEPUIS 2022

Dr Geoffrey GUITTARD & Dr Jacques NUNES

CONTEXTE

Les immunothérapies révolutionnent le traitement de certains cancers en ciblant principalement les lymphocytes T CD8+ γ δ . Cependant, des patients restent réfractaires à ces traitements. Ainsi, de nouvelles approches thérapeutiques et l'utilisation de nouvelles cellules cytotoxiques sont évaluées en immuno-oncologie telles que la manipulation des lymphocytes T γ δ (Waldman *et al.* Nat Rev Drug Discov 2020). Ces cellules représentent la population immunitaire offrant le pronostic le plus favorable en cas d'infiltration intra-tumorale sur un panel de 25 types de cancers différents (Gentles *et al.*, Nat. Med. 2015). Ce projet s'inscrit dans le développement par l'équipe d'un nouveau type d'immunothérapie intracellulaire ciblant des molécules inhibitrices de signalisation, telle que CISH (Cytokine-inducible SH2-containing protein). L'équipe a montré que la modulation génétique de CISH favorise les fonctions anti-tumorales des lymphocytes T CD8+ et des cellules Natural Killer (NK) (Palmer*, Guittard* *et al.*, J. Exp. Med. 2015 ; Bernard *et al.*, JTC, 2022). Ces études ont permis la mise en place d'essais cliniques de phase I/II (NCT04426669 / NCT05566223). Nous envisageons de cibler CISH dans les cellules T γ δ comme preuve de concept, puis d'identifier de nouvelles cibles intracellulaires dans ces cellules, par un criblage via CRISPR-Cas9 du génome entier.

OBJECTIFS

Les objectifs spécifiques de recherche sont d'identifier de nouvelles cibles dans les cellules T γ δ par criblage CRISPR, puis de modifier génétiquement les cellules T γ δ humaines et de déterminer les effets fonctionnels in vitro et in vivo. Ce projet sera réalisé en collaboration avec Le Dr. Sandrine Roulland (experte en criblage CRISPR/Cas9 ; CIML, Marseille) et Els Verhoyen (experte en transduction virale ; C3M, Nice). Les objectifs spécifiques du projet sont les suivants :

I. Comprendre et cibler la protéine intracellulaire inhibitrice CISH dans les lymphocytes T γ δ

- Déterminer l'expression de la protéine CISH dans les cellules T γ δ humaines
- Invalider le gène CISH dans les cellules T γ δ humaines (CRISPR-Cas9)
- Evaluer la fonctionnalité et la cytotoxicité des cellules T γ δ humaines invalidées pour CISH

II. Cribler et identifier de nouvelles protéines favorisant l'activité anti-tumorale des lymphocytes T γ δ .

- Identifier de nouvelles cibles γ δ par *screening CRISPR library*
- Déterminer les effets fonctionnels *in vitro* des cibles identifiées
- Déterminer les effets fonctionnels *in vivo* en utilisant des PDX

RÉSULTATS

Nous avons tout d'abord mis en place un protocole d'expansion des cellules T γ δ humaines primaires à partir de cellules du sang périphérique. Puis, nous avons montré par immuno-blot que la protéine intracellulaire CISH est exprimée après diverses stimulations IL-2, IL-15, NKG2D et par le TCR dans les cellules T V γ 9V δ 2 amplifiées. Nous développons actuellement une méthode de ciblage non virale pour cibler CISH pour insérer les RNPs (CAS9 + SgRNA CISH). Nos résultats préliminaires montrent une efficacité prometteuse dans des lignées T et NK pour le ciblage de CISH.

Enfin, pour la partie crible, nous avons produit une banque de sgRNA dans un type de lentivirus à enveloppe spécifique BAEV efficace pour transduire des T γ δ . L'utilisation de cette banque en parallèle de la protéine CAS9 avec le peptide d'intérêt est actuellement testée sur lignées cellulaires puis sur cellules T γ δ primaires.

Publications

1. Demerlé C, Gorvel L, Mello M, Pastor S, Degos C, Zarubica A, Angelis F, Fiore F, Nunes JA, Malissen B, Greillier L, Guittard G, Luche H, Barlesi F, Olive D. **Anti-HVEM mAb therapy improves antitumor immunity both in vitro and in vivo, in a novel transgenic mouse model expressing human HVEM and BTLA molecules challenged with HVEM expressing tumors.** J Immunother Cancer. 2023 May;11(5):e006348. doi: 10.1136/jitc-2022-006348.
2. Laletin V, Bernard PL, Costa da Silva C, Guittard G, Nunes JA. **Negative intracellular regulators of T-cell receptor (TCR) signaling as potential antitumor immunotherapy targets.** J Immunother Cancer. 2023 May;11(5):e005845. doi: 10.1136/jitc-2022-005845.
3. Pastor S, Wicinski J, Charafe-Jauffret E, Verhoeyen E, Guittard G, Ginstier C. **Production of CRISPRi-engineered primary human mammary epithelial cells with baboon envelope pseudotyped lentiviral vectors.** STAR Protoc. 2023 Jan 19;4(1):102055. doi: 10.1016/j.xpro.2023.102055. Online ahead of print.
4. Bernard PL, Delconte R, Pastor S, Laletin V, Costa Da Silva C, Goubard A, Josselin E, Castellano R, Krug A, Vernerey J, Devillier R, Olive D, Verhoeyen E, Vivier E, Huntington ND, Nunes J, Guittard G. **Targeting CISH enhances natural cytotoxicity receptor signaling and reduces NK cell exhaustion to improve solid tumor immunity.** J Immunother Cancer. 2022 May;10(5):e004244.



CHOOCan

CARACTÉRISATION DE L'ONTOGÉNIE ET DE L'ONCOGÉNÈSE DES CANCERS RARES ET DISSECTION DE LEUR MICRO-ENVIRONNEMENT À L'ÉCHELLE DE CELLULES UNIQUES

📍 STRASBOURG : ICANS - IGBMC - CERBM - Université de Strasbourg - CNRS - INSERM. SOUTENU DEPUIS 2023

Pr Gabriel MALOUF

CONTEXTE

Les cancers rares représentent 20 % de l'ensemble des cancers.

La place des traitements par immunothérapie sont très peu claires pour la majorité d'entre eux. Le lien entre le processus de cancérogénèse et la cellule d'origine est peu étudié.

C'est notamment le cas des cancers rares du rein, avec 22 sous-types différents, incluant entre autres les cancers papillaires, les carcinomes chromophobes et les cancers médullaires.

De même, les tumeurs neuroendocrines peuvent survenir dans des organes différents avec des caractéristiques moléculaires différentes et une réponse au traitement qui peut varier.

OBJECTIFS

Notre projet vise à caractériser à l'échelle de cellules uniques le lien entre l'ontogénie et l'oncogénèse de ces tumeurs avec analyse du microenvironnement tumoral d'une variété de cancers rares survenant au niveau du rein et ainsi qu'un groupe de tumeurs endocrines survenant dans différents types de localisation.

RÉSULTATS

Nous avons appliqué la preuve de concept du lien entre l'ontogénie et l'oncogénèse au niveau de deux types de tumeurs rares.

Au niveau des cancers médullaires du rein, nous avons démontré que la cellule d'origine est la cellule tubulaire de l'anse ascendante de Henlé.

Nous avons aussi décrit le switch des facteurs de transcription entre la cellule d'origine tubulaire avec notamment une perte de l'expression des facteurs de transcription définissant l'identité cellulaire de la cellule d'origine (i.e. TF2L1 et MITF) et gain des facteurs de transcription oncogénique comme MYC.

Nous avons démontré le mécanisme qui permet de transformation et la résistance des cellules à la mort par ferroptose (Vokshi *et al.*, 2023).

Nous avons également décrit l'environnement immunosuppresseur des tumeurs médullaires avec leur enrichissement en fibroblastes expliquant la résistance à l'immunothérapie.

Un travail analogue a été également fait au niveau des tumeurs papillaires et à translocation TFE3.

Par ailleurs, nous avons aussi montré un lien entre l'agressivité des néphroblastomes anaplasiques de l'enfant, les mutations TP53 et le système immunitaire (Su *et al.* 2023).

Nous avons identifié les inhibiteurs de WEE1 et d'ATR comme cible thérapeutique.

Enfin, nous avons caractérisé pour la première fois les tumeurs neuroendocrines pancréatiques et avons découverts 5 sous-types différents associés à des blocages à différents niveaux du développement des cellules endocrines pancréatiques.

Nous avons découvert un sous-groupe que nous avons appelé progéniteur associé à un mauvais pronostic. Des analyses sont en cours pour étendre le nombre de cas et analyser les interactions entre les populations cellulaires.

Publications

1. Vokshi, B. H., G. Davidson, N. Tawanaie Pour Sedehi, A. Helleux, M. Ripinger, A. R. Haller, J. Gantzer, J. Thouvenin, P. Baltzinger, R. Bouarich, V. Manriquez, S. Zaidi, P. Rao, P. Msaouel, X. Su, H. Lang, T. Tricard, V. Lindner, D. Surdez, J. E. Kurtz, F. Bourdeaut, N. M. Tannir, I. Davidson, and G. G. Malouf. 2023. **SMARCB1 regulates a TF2L1-MYC transcriptional switch promoting renal medullary carcinoma transformation and ferroptosis resistance.** Nat Commun, 14:3034.
2. Su X, Lu X, Bazai SK, Dainese L, Verschuur A, Dumont B, Mouawad R, Xu L, Cheng W, Yan F, Irtan S, Lindner V, Paillard C, Le Bouc Y, Coulomb A, Malouf GG. **Delineating the interplay between oncogenic pathways and immunity in anaplastic Wilms tumors.** Nat Commun. 2023 Nov 30. 14(1):7884. doi:10.1038/s41467-023-43290-3. PMID:38036539. PMCID:PMC10689851.



MSICare

DÉTECTION DE L'INSTABILITÉ MICROSATELLITAIRE DANS LES CANCERS HUMAINS DÉFECTIFS EN RÉPARATION DES ERREURS DE RÉPLICATION DE L'ADN (TUMEURS MSI) PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (NGS)

PARIS : Inserm UMRS 938 - Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA). SOUTENU DEPUIS 2022

Pr Alex DUVAL

CONTEXTE

Mismatch repair (MMR) deficient tumors display a molecular phenotype referred to as MSI (for Microsatellite Instability). MSI status was recently shown to predict clinical benefit from immune checkpoint inhibitors (ICI) in patients. These observations and others have led to international guidelines recommending universal MSI screening of all newly diagnosed tumors regardless of the primary tissue of origin. Today, molecular methods using PCR to detect the MSI phenotype are not very efficient, except in canonical tumor locations (colon, stomach). They do not allow to adapt to the current clinical situation which requires that this biomarker be reliably identified in pan-cancer and even in liquid biopsies (blood, others), in particular at the metastatic stage. Thus, the acquisition of a simple, reliable, highly sensitive and specific molecular method for diagnosing MSI in pan-cancer is today an urgent unmet clinical need. In the present project, we want to propose a bioinformatics algorithm, namely MSICare, as a high-performance diagnostic tool for the diagnosis of MSI in in pan-Cancer using next generation sequencing (NGS). Thanks to an exceptional clinical network and a unique genomic expertise in the field of MSI cancer research, our team has the possibility to propose the construction of such a tool in a short time (3 years) within the framework of an ambitious project based on the screening of a very large number of perfectly annotated normal and tumor samples coming from numerous primary locations. Importantly, some refinements of this diagnostic algorithm will be considered in the project, so that it will be able to identify the MSI status of a tumor sample without reference to matching healthy tissue, which is a major technological milestone in the clinic. Finally, we intend to implement this algorithm so that it will also be efficient to detect MSI on circulating tumor DNA, outside the primary tumor site (blood sample).

OBJECTIFS

In brief, the aims of the present project are as follows: (i) To demonstrate that MSICare is performant to diagnose MSI in pan-cancer from the analysis of paired tumor and matched normal DNAs (Primary objective 1, PO1). The level of genomic instability is highly variable in dMMR tumors. It depends in part on the MMR gene defect (e.g. low level

of MSI in MSH6-deficient [dMSH6] tumors) and the tissue origin of the cancer (e.g. low instability in dMMR glioblastomas compared to gastrointestinal tumors) 33. Thus, MSICare thresholds for detecting MSI in tumors will have to take into account the tumor origin and dMMR setting; (ii) To design an optimized MSICare tool for identifying MSI in samples (ctDNA, primary tumors) without referencing to matched normal DNAs whenever possible (primary objective 2, PO2). As previously done with the pentaplex, the reference to healthy tissue to detect MSI in tumor DNA can be dispensed with if a prior analysis of the polymorphism of each microsatellite in human populations. The opportunity to detect MSI from the isolated tumor DNA by NGS will offer the possibility of an easier detection of this biomarker in cancer patients, like for other tumor biomarkers that are currently detected in clinical oncology by NGS without analysis of the corresponding healthy DNA. This will simplify the sample circuit, limit identity control problems and reduce costs, and will facilitate as mentioned above the integration of MSI detection using NGS in clinical routine at a time when the search for other somatic biomarkers in human cancers does not require the use of normal DNA; (iii) To demonstrate that MSICare is also effective for detecting MSI in liquid biopsies from the analysis of circulating tumor DNAs (ctDNAs, primary objective 3, PO3). The invasive nature and specific prerequisite of MSIPCR and MMR-IHC tests might hinder their application when surgery is not an option or when the tumor tissues are insufficient. The application of NGS, which is highly sensitive, in combination with liquid biopsy to extract ctDNA whenever possible, therefore, presents an interesting possibility that we plan to explore. Moreover, post-diagnosis MSI testing is today more and more recommended for both hereditary syndrome screening as well as prognosis and treatment implications in MSI cancer patients, especially in the metastatic settings for detection of resistance and/or relapse in patients treated with ICI (fore review, see 11).

Overall, the envisioned application of this translational research program is to design a new bioinformatics software which will allow optimal detection of MSI in pan-Cancer, including tumors where this phenotype is scarce and/or difficult to diagnose using the current molecular standard approach (MSI PCR). Primary endpoints will be sensitivity, specificity, positive and negative predictive values. If accuracy is validated, the use of the new MSICare software will represent a major breakthrough for precision medicine of patients with MSI/dMMR tumors in pan-cancer, especially in metastatic settings to improve the prescription of ICI.

RÉSULTATS

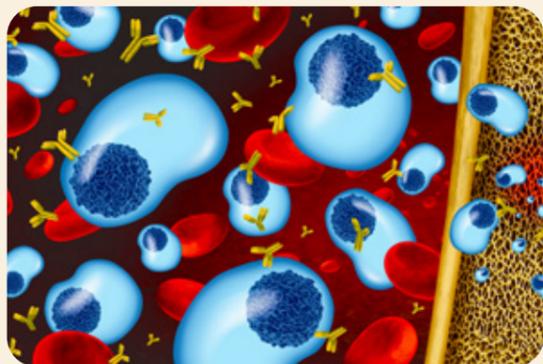
During this first year, we made a special effort to recruit the cohorts needed to develop the program. At the 3 sites (Paris, Toulouse, Lille), a prospective search for dMMR/MSI cases of interest was intensively carried out in panCancer. Several new recruitments have been made for this phase, which will continue (see financial appendix). Today, we are in a position to plan a complete bioinformatic analysis of cohorts from the colon, stomach and endometrium (more than 1,200 dMMR/MSI tumors overall for these 3 primary tumor locations) which were sequenced both by WES and using a targeted MSIDiag panel (441 Microsatellite Markers, cf. Ratovomanana *et al.*, Gastroenterology 2021). In addition, we have made significant progress towards the aim of being able to analyze MSI instability in tumors without the need for corresponding healthy tissue. Finally, we were able to use ctDNA (circulating tumor DNA) samples to analyze the possibility of validating MSI status in the blood of patients with metastatic colorectal cancer (NIPICOL cohort). These very significant advances enable us to envisage the possibility of publishing these results in the near future, particularly for the colon site (i.e., publication of the algorithm without associated healthy tissue and navalization analysis in ctDNA). We can also reasonably expect to publish our results for gastric and endometrial sites shortly. Importantly, the MSICare tool has also been used in 2023 in the context of other work from the team already accepted for publication (Ratovomanana *et al.*, Ann Oncol 2023, IF 54) or submitted (Jonchere *et al.*, submitted to Genome Biology, IF 18).

It is worth noting that in connection with the development of this research program, we have founded the startUp MSInsight, which has purchased a license to exploit the MSICare panCancer patent. This biotech company will be a key factor in helping us to capitalize on the academic work carried out by the Inserm team, thanks to the financial support of the MSDAvenir foundation.

Very importantly, this year was also used to draft the regulatory part of our program (research protocol, patient information note, MR004 context outside the Jaer law, etc.).

Publications

- Ratovomanana T, Nicolle R, Cohen R, Diehl A, Siret A, Letourneur Q, Buhard O, Perrier A, Guillerm E, Coulet F, Cervera P, Benusiglio P, Labrèche K, Colle R, Collura A, Despras E, Le Rouzic P, Renaud F, Cros J, Alentorn A, Touat M, Ayadi M, Bourgoin P, Prunier C, Tournigand C, Fouchardière C, Tougeron D, Jonchère V, Bennouna J, de Reynies A, Fléjou JF, Svrcek M, André T, Duval A. **Prediction of response to immune checkpoint blockade in patients with metastatic colorectal cancer with microsatellite instability.** Ann Oncol. 2023 Aug ; 34(8):703-713. doi:10.1016/j.annonc.2023.05.010. Epub 2023 Jun 1.PMID: 37269904 Free PMC article.
- Benusiglio PR, Elder F, Touat M, Perrier A, Sanson M, Colas C, Guerrini-Rousseau L, Tran DT, Trabelsi N, Carpentier C, Marie Y, Adam C, Bernier M, Cazals-Hatem D, Mokhtari K, Tran S, Mathon B, Capelle L, Dhooge M, Idbaih A, Alentorn A, Houillier C, Dehais C, Hoang-Xuan K, Cuzzubbo S, Carpentier A, Duval A, Coulet F, Bielle F. **Mismatch Repair Deficiency and Lynch Syndrome Among Adult Patients With Glioma.** JCO Precis Oncol. 2023 May ; 7:e2200525. doi: 10.1200/PO.22.00525.PMID: 37262394.
- Vibert R, Hasnaoui J, Perrier A, Lefebvre A, Colas C, Dhooge M, Basset N, Chansavang A, Desseignes C, Duval A, Fareilly S, Hamzaoui N, Laurent-Puig P, Metras J, Moliere D, Muleris M, Netter J, Touat M, Bielle F, Labreche K, Nicolle R, Perkins G, Warcoin M, Coulet F, Benusiglio PR. **Lynch syndrome: influence of additional susceptibility variants on cancer risk.** Eur J Hum Genet. 2023 Sep;31(9):1078-1082. doi: 10.1038/s41431-023-01367-z. Epub 2023 Apr 24.PMID: 37088804 Free PMC article.
- Colle R, Lonardi S, Cachanado M, Overman MJ, Elez E, Fakhri M, Corti F, Jayachandran P, Svrcek M, Dardenne A, Cervantes B, Duval A, Cohen R, Pietrantonio F, André T. **BRAF V600E/RAS Mutations and Lynch Syndrome in Patients With MSI-H/dMMR Metastatic Colorectal Cancer Treated With Immune Checkpoint Inhibitors.** Oncologist. 2023 Apr 6:oyad082. doi:10.1093/oncolo/oyad082. Online ahead of print.PMID: 37023721 Free PMC article.
- Dorard C, Madry C, Buhard O, Toiff S, Didusch S, Ratovomanana T, Letourneur Q, Dolznig H, Garnett MJ, Duval A, Baccarini M. **RAF1 contributes to cell proliferation and STAT3 activation in colorectal cancer independently of microsatellite and KRAS status.** Oncogene. 2023 May ; 42(20):1649-1660. doi:10.1038/s41388-023-02683-w. Epub 2023 Apr 5. PMID:37020037.
- Hernández-Verdín I, Akdemir KC, Ramazzotti D, Caravagna G, Labreche K, Mokhtari K, Hoang-Xuan K, Peyre M, Bielle F, Touat M, Idbaih A, Duval A, Sanson M, Alentorn A. **Pan-cancer landscape of AID-related mutations, composite mutations, and their potential role in the ICI response.** NPJ Precis Oncol. 2022 Dec 1 ; 6(1):89. doi:10.1038/s41698-022-00331-2. PMID:36456685 Free PMC article.
- Noel K, Bokhari A, Bertrand R, Renaud F, Bourgoin P, Cohen R, Svrcek M, Joly AC, Duval A, Collura A. **Consequences of the Hsp110DE9 mutation in tumorigenesis and the 5-fluorouracil-based chemotherapy response in Msh2-deficient mice.** Cell Mol Life Sci. 2022 Jun 1;79(6):332. doi:10.1007/s00018-022-04293-3. PMID:35648235
- Favier A, Varinot J, Uzan C, Duval A, Brocheriou I, Canlorbe G. **The Role of Immunohistochemistry Markers in Endometrial Cancer with Mismatch Repair Deficiency: A Systematic Review.** Cancers (Basel). 2022 Aug 3 ; 14(15):3783. doi:10.3390/cancers14153783. PMID: 35954447 Free PMC article.



EpiMuM-3D

TUMORIGÉNÈSE DES CELLULES B MATURES :
DES MÉCANISMES MOLÉCULAIRES AUX PATIENTS

📍 MONTPELLIER : IGH - CNRS - Université de Montpellier.
SOUTENU DEPUIS 2023

Jérôme MOREAUX, Giacomo CAVALLI, Rosemary KIERNAN,
Domenico MAIORANO & Philippe PASERO

CONTEXTE

Les cellules plasmocytaires (PCs) représentent l'étape finale de la différenciation des lymphocytes B. Les lymphocytes B sont produits en continu au cours de la vie adulte et ils subissent différents réarrangements génétiques associés à des cassures de l'ADN au cours de leur maturation. Il semble que la transformation oncogénique du myélome multiple (MM) et du lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL) se produit dans les organes lymphoïdes secondaires. Au cours de la tumorigénèse précoce, les mutations fondatrices acquises par les cellules B mémoires ou résultant d'erreurs de réplication de l'ADN après activation des cellules B, peuvent produire un ensemble de cellules B mémoire aberrantes qui supplantent progressivement les cellules B mémoires normales et les cellules B naïves. En outre, la participation à des réactions GC successives devrait entraîner l'acquisition cumulative d'autres mutations dans ces cellules. Deux classes d'événements peuvent contribuer à l'apparition et à l'évolution de ces cancers : l'une est la génération de mutations initiatrices et la seconde est la perturbation de la régulation épigénétique et de l'architecture 3D du génome, qui pourrait conduire à une dérégulation de l'expression des gènes et à des changements dans le destin des cellules.

Ces dernières années, le traitement des hémopathies malignes a profondément évolué avec les approches d'immunothérapies incluant les anticorps monoclonaux, les anticorps bi-spécifiques, les inhibiteurs de checkpoints immunitaires et les cellules CAR-T, qui vont améliorer très significativement la survie des patients. Récemment, le stress réplicatif et la réponse aux dommages à l'ADN induits par la chimiothérapie ont émergé comme étant des déterminants majeurs de l'immunogénicité des cellules tumorales.

OBJECTIFS

Dans le projet EpiMuM3D, nous réaliserons pour la première fois la caractérisation complète et intégrée des événements d'instabilité génomique, y compris les cibles médiées par les R-loops et AID, ainsi que les changements d'organisation du génome en 3D dans la différenciation des cellules B en cellules plasmocytaires. Nous allons également évaluer l'impact du stress médié par les R-loops dans la

tumorigénèse des cellules B matures et plasmocytaires ainsi que l'intérêt thérapeutique d'augmenter ce stress en ciblant spécifiquement ces R-loops dans les cellules de myélome multiple (MM).

En nous appuyant sur la cohorte HEMODIAG, qui est une cohorte longitudinale incluant des prélèvements avant et après le traitement du diagnostic à la seconde rechute, nous allons analyser la production d'ADN cytosolique dans le plasma, analyser l'évolution des populations immunitaires par des approches de single-cell RNA-seq et les niveaux de cytokines pro-inflammatoires dans le plasma des patients pour le corrélérer à la réponse aux traitements et au pronostic des patients. Nous évaluerons aussi l'intérêt thérapeutique d'augmenter le stress lié aux R-loops et l'impact sur la réponse aux agents d'immunothérapie *in vitro* sur des cellules primaires de patients co-cultivées avec le microenvironnement médullaire incluant les cellules immunitaires et *in vivo* à l'aide des modèles murins de MM.

Ces travaux visent à développer de nouvelles approches thérapeutiques pour augmenter la réponse des cellules tumorales aux agents d'immunothérapie qui révolutionnent la prise en charge des patients et de nouveaux biomarqueurs pronostiques et de suivi de la maladie.

RÉSULTATS

Nous avons commencé la caractérisation d'un modèle *in vitro* de différenciation de cellules B mémoires en plasmocytes par des approches de single-cell RNA-seq et single cell ATAC-seq afin de mieux comprendre l'implication des programmes transcriptionnels et épigénétiques dans la différenciation plasmocytaire normale et la tumorigénèse (Alaterre *et al.* Blood. In Revision).

Nous avons pu identifier que le ciblage conjoint de CHK1 et WEE1 impliqués dans la réponse aux dommages à l'ADN représente une cible thérapeutique dans le Myélome Multiple dans un contexte de chimiothérapie et d'immunothérapie (Bruyer A *et al.* Front Oncology. In Press).

Publications

1. Bruyer A, Dutrieux L, De Bousnac H, Martin T, Chemlal D, *et al.* **Combined inhibition of Wee1 and Chk1 as a therapeutic strategy in multiple myeloma.** *Frontiers in Oncology*. In Press.
2. Alaterre E, Ovejero S, Bret C, Espéli M, Fest T, *et al.* **Integrative single-cell chromatin and transcriptome analysis of human plasma cell differentiation.** *Blood*. In revision.



SIGNALOPATHIES

SOIGNER LES SIGNALOPATHIES

📍 PARIS : Université Paris Cité
SOUTENU DEPUIS 2023

Guillaume CANAUD & Mario PENDE

CONTEXTE

Les syndromes d'hypercroissance dysharmonieuse sont des troubles génétiques rares définies par une hypertrophie tissulaire qui peut être localisée ou généralisée, affectant à la fois la croissance latitudinale et longitudinale. Les mutations ne sont pas héréditaires mais surviennent au cours de l'embryogenèse conduisant au mosaïcisme somatique. Les gènes impliqués dans les syndromes d'hypercroissance dysharmonieuse ne sont pas bien caractérisés mais concernent majoritairement la voie de signalisation RAS/PIK3CA/AKT/mTOR, acteur majeur de la croissance et de la prolifération cellulaire. Par conséquent, le terme général de signalopathie a été inventé pour regrouper ces maladies, dont les manifestations pathologiques peuvent couvrir un large spectre allant des anomalies vasculaires sporadiques aux crises d'épilepsie. En raison de la variabilité de la présentation clinique, leur prévalence exacte est encore inconnue.

Actuellement, médecins et patients sont confrontés à de multiples difficultés. Premièrement, en raison du mosaïcisme (c'est-à-dire que seules certaines parties du corps sont affectées), l'identification des variants est un véritable défi et nécessite un dépistage par séquençage profond. Deuxièmement, l'évaluation radiologique de la zone touchée est fondamentale mais complexe en raison de leurs difformités, des couches tissulaires impliquées et de leur localisation anatomique. Troisièmement, en raison de nos connaissances limitées sur la physiopathologie de ces troubles, il n'existe pas de traitements spécifiques. Les patients atteints de syndromes d'hypercroissance dysharmonieuse reçoivent majoritairement des soins de support basés sur la chirurgie de réduction et de mutilation, entraînant des handicaps invalidants aux conséquences sociales délétères caractérisées par un taux élevé de décrochage scolaire des enfants, une désocialisation mais aussi des décès prématurés.

OBJECTIFS

Nous avons démontré que nous pouvions créer des modèles murins d'hypercroissance dysharmonieuse, identifier et repositionner un médicament en cours de développement en oncologie et passer rapidement à une application Clinique, ainsi que définir les mécanismes d'action et les biomarqueurs.

Dans cette proposition, nous visons à transformer la prise en charge des patients atteints de syndromes de croissance disharmonieuse. Dans ce projet, nous allons :

1. Comprendre la physiopathologie de ces troubles permettant une médecine de précision.
2. Envisager de nouvelles thérapies avec le repositionnement des médicaments.
3. Décrire l'histoire naturelle de ces troubles.
4. Améliorer la prise en charge de ces patients.

RÉSULTATS

Cette proposition représente un exemple de recherche translationnelle du laboratoire au chevet du patient et *vice et versa*, bénéficiant directement aux patients. Ce projet à haut risque aura certainement des retombées dans différents domaines, dont l'hypercroissance dysharmonieuse mais aussi l'oncologie (basée sur la fréquence de ces mutations dans le cancer), le développement vasculaire, la neurologie des crises épileptiques ainsi que la reprogrammation cellulaire. Les résultats préliminaires très encourageants sont compatibles avec le calendrier que nous avons défini.

Pour relever ce défi, nous sommes deux lauréats ERC, experts de ces voies de signalisation, qui ont des compétences complémentaires, une expérience dans les modèles génétiques murins, les connaissances pour aborder la physiopathologie de ces syndromes et pour identifier des médicaments prometteurs.

Publications

1. Venot Q. *et al.* **Targeted therapy in patients with PIK3CA-related overgrowth syndrome.** *Nature* 558, 540-546, doi:10.1038/s41586-018-0217-9 (2018).
2. Ladraa S. *et al.* **PIK3CA gain-of-function mutation in adipose tissue induces metabolic reprogramming with Warburg-like effect and severe endocrine disruption.** *Sci Adv* 8, eade7823, doi:10.1126/sciadv.ade7823 (2022).
3. Morin G. *et al.* **Treatment of two infants with PIK3CA-related overgrowth spectrum by alpelisib.** *The Journal of experimental medicine* 219, doi:10.1084/jem.20212148 (2022).
4. Bonucci M. *et al.* **mTOR and S6K1 drive polycystic kidney by the control of Afadin-dependent oriented cell division.** *Nature communications* 11, 3200, doi:10.1038/s41467-020-16978-z (2020).
5. Tighanmine K. *et al.* **Glycerol-3-phosphate and Phosphoethanolamine homeostatic switch triggers senescence by rewiring lipid metabolism.** *Nature Metabolism*, in press (2023).



HOLOGRAM

DECIPHERING CELLULAR AND MOLECULAR HETEROGENEITY IN LOW-GRADE SEROUS OVARIAN CANCER FOR NEW TREATMENT

PARIS : Institut Curie
SOUTENU DEPUIS 2023

Fabrice LÉCURU, Manuel RODRIGUES
& Fatima MECHTA-GRIGORIOU

CONTEXTE

Epithelial ovarian cancer is a silent disease with poor prognosis. Low-grade serous carcinoma of the ovary or peritoneum (LGSC) has been separated 20 years ago from high-grade serous carcinomas (HGSC). Low-grade serous carcinoma is a rare disease that is genetically and clinically distinct from the high-grade serous carcinoma, but much less explored until now. Nowadays, the therapeutic strategy resides first in the surgical resection of the tumor followed by a systemic treatment (chemotherapy or hormone therapy). As low-grade serous carcinoma carries mutations in RAS or RAF, targeted therapies have been tested in clinical trials with variable results, depending on the drug used and on the trial design. In this project, we will precisely define cellular composition and molecular features of LGSC tumors in order to define new therapeutic opportunities.

OBJECTIFS

Our consortium plans to establish a comprehensive and integrated map based on a set of biological and spatial data from an available LGSC patient collection, and to combine them with representative -already collected- clinical data. The current project aims to study LGSC by combining clinical and biological analyses. This project will benefit from the association between clinicians and biologists joining their skills to analyze this rare subgroup of ovarian cancer. The project will be based on an already constituted retrospective cohort of low-grade serous ovarian cancer, including 270 patients.

The project will be subdivided into 3 main axes, which aim to:

- Characterize cellular heterogeneity and cell-to-cell interactions within LGSC tumors,
- Define the transcriptomic and genomic profiles of LGSC tumors,
- Identify novel therapeutic options for LGSC according to their newly identified biological properties.

RÉSULTATS

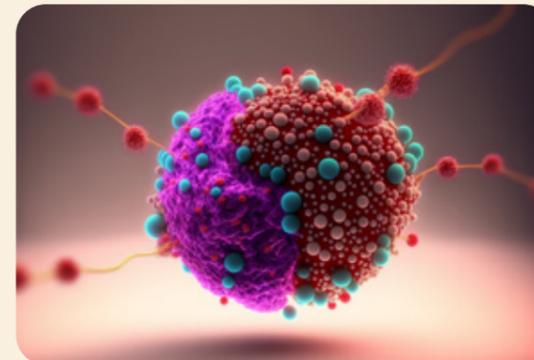
In brief, we will define inter-tumor heterogeneity in LGSC by performing transcriptomic and genomic profiling. In addition, we will determine the cellular composition and molecular signatures of the different tumor microenvironment (TME) components in LGSC through deconvolution of bulk RNA sequencing and spatial transcriptomics.

By comparing them with already generated data from high-grade serous ovarian cancer, we will highlight the common features between LGSC and HGSC but also uncover the specific characteristics of LGSC (considering the content in different TME cell types and states, their spatial distribution, and molecular signatures). We will test the impact of LGSC molecular features and cellular composition on clinical outcome, in order to predict patient resistance to chemotherapy. Finally, we will identify novel therapeutic options for LGSC according to newly identified biological properties.

This tumor has received little attention since its definition 20 years ago. Hopefully several teams are now developing research programs on it and a strong competition has started. We dispose of several assets with a national database and high-level techniques to explore this disease and find new therapeutic options. Importantly, all these acquired knowledge and expertise (single cell analyses, deconvolution methods, spatial omics) will be transposable to other cancer types.

Publications

1. Kieffer Y, Hocine H.R., Gentric G., Pelon F., Bernard C., Bourachot B., Lameiras S., Albergante L., Bonneau C., Guyard A. *et al.* (2020). **Single-Cell Analysis Reveals Fibroblast Clusters Linked to Immunotherapy Resistance in Cancer.** *Cancer Discovery* 10, 1330-1351. doi:10.1158/2159-8290.CD-19-1384.
2. H. Croizer, R. Mhaidly, Y. Kieffer, G. Gentric, L. Djerroudi, R. Leclere, F. Pelon, M. Bohec, A. Meng, D. Meseure, E. Romano, S. Baulande, A. Peltier, A. Vincent-Salomon and F. Mechta-Grigoriou. **Comprehensive landscape of stromal heterogeneity and plasticity in breast cancer.** Under Revision.
3. M. Licaj, R. Mhaidly, Y. Kieffer, H. Croizer, C. Bonneau, A. Meng, L. Djerroudi, K. Mujangi-Ebeka, H. R. Hocine, B. Bourachot, I. Magagna, R. Leclere, M. Bohec, S. Baulande, M. Kamal, C. Le Tourneau, F. Lecuru, V. Becette, R. Rouzier, A. Vincent-Salomon, G. Gentric and F. Mechta-Grigoriou. **Residual ANTXR1+ myofibroblasts after chemotherapy inhibit anti-tumor immunity via YAP1 signaling pathway.** Under Revision.
4. Brouillard-Saby F, Saint-Martin C, Ray-Coquard I, Gladiéff L, Pomel C, Colombo PE, Classe JM, Chevrier M, Joly F, De la Motte Rouge T, Floquet A, Sabatier R, Barranger E, Costaz H, Leblanc E, Marchal F, Pautier P, Bosquet L, Rodrigues M. **Efficacy of chemotherapy according to BRCA status in patients with high-grade serous ovarian carcinoma at first platinum-sensitive relapse.** *Int J Gynecol Cancer.* 2023 Jan 11;ijgc-2022- 003993.
5. Hanvic B, Lecuru F, Vanacker H, Pautier P, Narducci F, Cherifi F, Floquet A, Angeles MA, Berton D, Pomel C, Kalbacher E, Provansal M, Fernandez Y, Rouge TM, Roméo C, Laas E, Morice P, Hudry D, Meriaux E, Guyon F, Illac-Vauquelin C, Selle F, Meeus P, Genestie C, Salleron J, Ray-Coquard I. **Impact of surgery and chemotherapy in ovarian sex cord-stromal tumors from the multicentric Salomé study including 469 patients.** A TMRG and GINECO group study. *Gynecol Oncol.* 2023 May 19;174:190-199.



VIRONMENT

MICROENVIRONNEMENT TUMORAL ASSOCIÉ AUX VIRUS : CARACTÉRISATION ET MÉCANISMES IMMUNOLOGIQUES DE RÉSISTANCE AUX TRAITEMENTS ANTITUMORAUX

PARIS : Fondation Sorbonne Université
SOUTENU DEPUIS 2023

Pr Jean-Philippe SPANO, Dr Vincent VIEILLARD
& Dr Baptiste ABBAR

CONTEXTE

Après des décennies de recherche en cancérologie ciblant les cellules tumorales, les stratégies visant à cibler le microenvironnement tumoral (MET) à visée thérapeutique sont en pleine expansion. En effet, il a été démontré que la composition et la qualité du MET ont un impact pronostique majeur et influencent la réponse aux traitements antitumoraux, tels que les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire (ICI) et les chimiothérapies cytotoxiques. Les mécanismes immunitaires associés au MET et impliqués dans la résistance aux traitements antitumoraux n'ont été que partiellement décrits ; et conduisent actuellement au développement de nouvelles approches thérapeutiques prometteuses. Les cancers associés aux virus sont fréquents et constituent un problème majeur de santé publique. Plusieurs virus sont décrits comme associés aux cancers, soit directement impliqués dans la cancérogénèse (oncovirus, exemple : Human Papilloma Virus (HPV)) soit indirectement en induisant par exemple une immunodépression favorisant la survenue de cancer (exemple : Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH)). Ces virus semblent capables d'affecter le profil moléculaire et le MET de ces cancers et ainsi modifier leurs sensibilités aux traitements antitumoraux. Cependant, l'association d'un cancer à un virus ne conduit que rarement à des ajustements dans l'approche thérapeutique oncologique. Certains MET associés aux virus ont été partiellement décrits, en utilisant principalement des approches transcriptomiques et centrées sur les lymphocytes T. Les mécanismes immunitaires spécifiquement associés aux virus et impliqués dans la résistance aux traitements antitumoraux tels que les ICI et la chimiothérapie n'ont à ce jour pas encore été décrits. Dans cette étude VIRONMENT nous étudierons à l'échelle transcriptomique (RNAseq) et protéomique (cytométrie de masse sur coupe tissulaire) la composition du MET au diagnostic et à résistance sous traitement antitumoral de différents types de cancers associés (groupe cas) ou non-associés (groupe contrôle) à un virus. La caractérisation du MET et des mécanismes immuno-moléculaires impliqués dans la résistance aux traitements antitumoraux, tant pour les cancers associés à un virus que pour les cancers non-associés à un virus, permettrait de révéler de nouvelles cibles thérapeutiques moléculaires et immunitaires. Ces découvertes pourraient servir de base à l'élaboration de futures stratégies thérapeutiques ciblant spécifiquement le MET des cancers associés aux virus.

OBJECTIFS

Objectif principal :

- Caractérisation des microenvironnements tumoraux spécifiquement associés aux virus : compositions cellulaire et moléculaire du microenvironnement tumoral au diagnostic analysées par des approches transcriptomique (RNAseq) et protéomique (cytométrie de masse sur coupe tissulaire).

Objectifs secondaires :

- Identifier les mécanismes immunitaires spécifiquement associés aux virus et impliqués dans la résistance aux ICI et aux chimiothérapies cytotoxiques ; modification de la composition cellulaire et moléculaire du microenvironnement tumoral à résistance sous traitement systémique antitumoral par rapport au diagnostic, analysée par approches transcriptomique (RNAseq) et protéomique (cytométrie de masse sur coupe tissulaire).
- Découvrir de nouvelles cibles moléculaires et immunitaires pour de futures stratégies thérapeutiques basées sur le MET des cancers associés aux virus.

RÉSULTATS

Plusieurs cohortes seront recrutées associant différents cancers et virus : Carcinome bronchique non à petites cellules (CBNPC) VIH+ vs VIH- ; CBNPC HPV+ vs HPV- ; Cancer de l'oropharynx HPV+ vs HPV- ; Cancer du canal anal HPV+VIH+ vs HPV+VIH- ; Lymphome non-Hodgkinien (LNH) Epstein Barr virus (EBV)+ vs EBV- ; LNH VIH+ vs VIH-. Le nombre attendu de patients inclus est de 254.

Nous prévoyons d'observer une différence dans les compositions cellulaire et moléculaire du MET au diagnostic, à la fois à l'échelle transcriptomique (RNAseq) et protéomique (cytométrie de masse) entre les cancers associés aux virus et les cancers non-associés aux virus. On anticipe que ces variations observées soient spécifiques à chaque virus et à chaque type de cancer.

Il est également attendue une différence dans les mécanismes immuno-moléculaires associés au MET et impliqués dans la résistance aux traitements antitumoraux entre les cancers associés aux virus et les cancers non-associés aux virus. Il est prévu que ces distinctions soient spécifiques à chaque virus et à chaque type de cancer.

Grâce à ces résultats, nous aspirons à élaborer des stratégies thérapeutiques novatrices visant le microenvironnement tumoral (MET) des cancers associés aux virus, ouvrant ainsi la voie à une ère nouvelle dans le domaine des thérapies oncologiques spécifiquement adaptées à ces associations virales.

Publications

1. Baron M, Soulié C, Lavolé A, Assoumou L, Abbar B, Fouquet B, *et al.* **Impact of Anti PD-1 Immunotherapy on HIV Reservoir and Anti-Viral Immune Responses in People Living with HIV and Cancer.** *Cells.* 2022 Mar 17;11(6):1015. doi:10.3390/cells11061015. PubMed PMID: 35326466.
2. M. Baron, K. Labreche, M. Veyri, N. Désiré, A. Bouzidi, F. Charlotte *et al.* **EBV and immune status imprint the immunogenomics of non-Hodgkin lymphomas occurring in immune-suppressed environments.** *Haematologica.* 2023. Submitted.



BC-DigitalPath



ON OUR WAY TO THE 30'S: BUILDING A WORLD-CLASS MULTI-OMICS SPATIAL BREAST CANCER DATABASE

PARIS : Institut Curie
SOUTENU DEPUIS 2023

Anne VINCENT-SALOMON

CONTEXTE

Vers les années 2030 : construction d'une base de données spatiales multi-omiques sur le cancer du sein d'envergure mondiale.

Le cancer du sein est un problème majeur de santé publique, restant à la fois le cancer le plus fréquent et le plus meurtrier chez les femmes. Malgré l'arrivée des immunothérapies notamment, il existe un besoin médical critique non satisfait d'identifier des biomarqueurs robustes pour le pronostic des patients et la prédiction de la réponse au traitement afin d'optimiser la prise de décision clinique.

Pour répondre à ce besoin, la pathologie digitale et les algorithmes d'intelligence artificielle (IA) sont très prometteurs car ils permettent d'obtenir des informations nouvelles et approfondies sur des caractéristiques tumorales inconnues, utiles pour le pronostic des patients. La numérisation des lames histologiques est en cours dans de nombreux hôpitaux. Dans ce contexte, nous proposons ici de faire entrer la pathologie digitale dans une nouvelle ère, en utilisant notre expertise en IA et en transcriptomique spatiale, ainsi que la position de leader de l'Institut Curie dans le traitement du cancer du sein en Europe.

OBJECTIFS

BC-DigitalPath est un projet très ambitieux visant à générer le plus grand entrepôt d'images de lames entières de cancer du sein en Europe, avec des données pathologiques et cliniques bien structurées et une caractérisation multi-omique approfondie. Nous proposons de numériser des lames histologiques de cancers du sein pour 15 000 patientes sur une période de 6 ans. Nous aurons accès aux données radiologiques de la plupart des patientes.

Nous allons également caractériser de façon approfondie les tumeurs et leur microenvironnement pour un sous-ensemble de patientes par des analyses omiques de pointe, telle la transcriptomique spatiale grâce à l'expertise du laboratoire de Fatima Mechta-Grigoriou.

Cet ensemble de données sera exploité afin de mieux caractériser les tumeurs du cancer du sein et leur microenvironnement et de fournir des modèles prédictifs et des biomarqueurs morphologiques applicables à des lames de cancer du sein utilisées en routine. Ce projet a donc le potentiel de positionner l'Institut Curie - et la France - comme pionnier dans le domaine de la pathologie digitale et de la découverte de biomarqueurs d'IA pour le cancer du sein.

RÉSULTATS

L'équipe de Thomas WALTER, spécialisée en deep learning et en pathologie digitale, étendra les méthodes existantes et en développera de nouvelles pour s'attaquer à des tâches de prédiction difficiles. Deux types de résultats sont ainsi attendus :

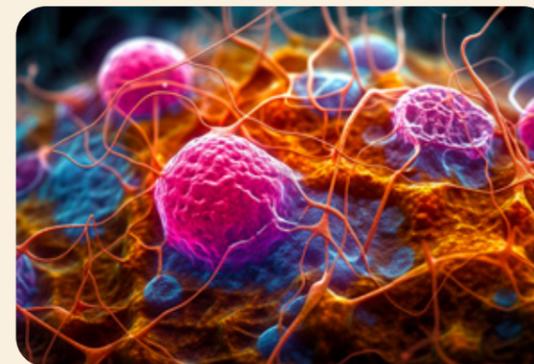
- La création d'une base de données sans précédent sur le cancer du sein, comprenant des images de lames entières pour 15 000 patientes et des données multi-omiques pour un sous-ensemble de patientes
- Le développement d'outils basés sur l'IA pour prédire le pronostic et la réponse au traitement des patientes atteintes d'un cancer du sein.

Le projet BC-DigitalPath doit être considéré comme le point de départ d'une multitude de projets translationnels qui s'appuieront sur l'accès à cette base de données sur le cancer du sein.

Notre ambition est d'améliorer le diagnostic et les soins cliniques des cancers du sein grâce à la génération d'un ensemble de données unique pour le cancer du sein (pathologie numérique, multi-omique) et au développement d'algorithmes d'apprentissage profond pour déduire des biomarqueurs pronostiques et prédictifs, avec l'objectif ultime de mettre en œuvre ces biomarqueurs et ces outils dans la pratique clinique.

Publications

1. Lazard T, *et al.* **Deep learning identifies morphological patterns of homologous recombination deficiency in luminal breast cancers from whole slide images.** *Cell Rep Med.* 2022 Dec 20 ; 3(12):100872.
2. Kieffer Y, *et al.* **Single-Cell Analysis Reveals Fibroblast Clusters Linked to Immunotherapy Resistance in Cancer.** *Cancer Discov.* 2020 Sep ; 10(9):1330-1351.



SNIFE

STRATIFICATION AND INTERCEPTION OF PRENEOPLASIA

LYON : Centre Léon Bérard - CRCL
SOUTENU DEPUIS 2023

Patrick MELHEN & Pierre SAINTIGNY

CONTEXTE

Il est clairement admis aujourd'hui que la tumorigénèse n'est pas seulement dictée par des événements (épi)généétiques au sein des cellules en voie de transformation, mais également largement influencée par leur microenvironnement. Cette dernière décennie a permis d'importantes avancées dans la compréhension du microenvironnement influençant la progression des tumeurs déjà établies en favorisant ou en réprimant leur croissance. Les états précancéreux, que ce soit dans des modèles précliniques peu nombreux ou des échantillons de patients, demeurent mal caractérisés. Il apparaît donc nécessaire de les étudier en considérant les cellules en voie de transformation dans leur microenvironnement, et en intégrant des données issues de modèles d'études innovants et de cohortes de patients porteurs de lésions à potentiel de transformation maligne bien définies. SNIFE propose d'améliorer notre compréhension des mécanismes biologiques impliqués dans la transformation et leur dynamique spatiale et temporelle afin de développer les stratégies d'interception de demain qui auront pour objectif de réduire l'incidence des cancers.

OBJECTIFS

SNIFE s'appuie sur l'expertise internationale des équipes de recherche du CRCL ainsi que sur l'expertise médicale du Centre Léon Bérard. La question centrale est adressée sur des modèles et organes ciblés, tels que la moelle osseuse, le sein, la peau, le tractus gastro-intestinal, les voies aérodigestives supérieures et le poumon, maîtrisés par les équipes de recherche. La question du processus de transformation dans ces différents modèles préneoplasiques est abordée avec des technologies de pointe permettant d'établir ainsi une biologie comparée.

Les objectifs scientifiques de SNIFE sont les suivants :

1. Caractérisation des hétérogénéités intra- et inter-tissulaire de lésions préneoplasiques jusqu'au développement ou non de tumeurs malignes, lorsque des modèles le permettent et au niveau de la cellule unique.

- 2.** Etude de la plasticité et de l'échappement aux programmes biologiques de sauvegarde intrinsèque et extrinsèque.
- 3.** Décryptage du dialogue entre les cellules immunitaires, stromales et en voie de transformation à l'origine de la transition de l'état préneoplasique vers un cancer.
- 4.** Evaluation préclinique de nouvelles stratégies d'interception de cette transition et d'une meilleure stratification des patients.

RÉSULTATS

SNIFE permettra d'améliorer la classification des lésions préneoplasiques et d'identifier des vulnérabilités biologiques exploitables dans le cadre de stratégies d'interception de la transformation maligne. Nous caractériserons les événements biologiques clés, dans le temps et dans l'espace, qui contribuent au développement d'une lésion maligne. La méthodologie employée s'appuiera sur l'analyse de tissus normaux, préneoplasiques et malins provenant à la fois de modèles animaux maîtrisés et de cohortes uniques de patients, permettant d'identifier les processus biologiques jouant un rôle déterminant au cours de la tumorigénèse.

SNIFE aura un fort impact scientifique et médical car il permettra de définir de nouvelles stratégies préventives de précision pour l'interception de la transition de la préneoplasie à la tumeur maligne établie. SNIFE participera ainsi de manière significative à la définition de nouvelles approches de médecine préventive personnalisée.

Publications

1. Hubert M, [...] Bendriss-Vermare N, Caux C, Valladeau-Guilemond J. **IFN-III is selectively produced by cDC1 and predicts good clinical outcome in breast cancer.** *Sci Immunol.* 2020 Apr 17 ; 5(46):eaav3942.
2. Berthenet K, Weber K, Ichim G. **Sometimes even apoptosis fails: implications for cancer.** *Mol Cell Oncol.* 2020 Aug 23;7(6):1797430.
3. Huyghe A, [...] Laval F. **Comparative roadmaps of reprogramming and oncogenic transformation identify Bcl11b and Atoh8 as broad regulators of cellular plasticity.** *Nat Cell Biol.* 2022 Sep ; 24(9):1350-1363.
4. Ablain J, [...] Zon LI. **Loss of NECTIN1 triggers melanoma dissemination upon local IGF1 depletion.** *Nat Genet.* 2022 Dec ; 54(12):1839-1852.
5. Lengrand J, [...], Mehlen P, Voet T, Bernet A, Blanpain C. **Pharmacological targeting of netrin-1 inhibits EMT in cancer.** *Nature.* 2023 Aug ; 620(7973):402-408.



TBC

TREATING BREAST CANCER

📍 MARSEILLE : INSERM
SOUTENU DEPUIS 2023

Emilie NARNI-MANCINELLI, Eric VIVIER & Fabrice ANDRE

CONTEXTE

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer in women worldwide, and metastatic breast cancer is the second leading cause of cancer-related deaths in American women. Breast cancer is classified into four distinct molecular subtypes based on the expression profile of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and human epidermal growth factor receptor (HER2). In particular, triple-negative breast cancer (TNBC), characterized by the absence of ER, PR and no HER2 overexpression, is the most aggressive subtype of breast cancer. Also, HER2 positive defining a subgroup of breast tumors with aggressive behavior. Increased early screening, high-resolution imaging technology, and the design of effective chemotherapy, radiation, targeted, and immunotherapy sequences have extended patients' lives significantly. However, the prognosis for patients with locally advanced and metastatic disease remains poor.

New therapies that promote anti-tumor immunity have been developed over the last decade. Most of these immunomodulatory approaches have focused on enhancing T-cell responses, either by targeting inhibitory pathways with immune checkpoint inhibitors, or by targeting activating pathways, as with chimeric antigen receptor T cells or bispecific antibodies. Although these therapies have led to unprecedented successes, only a minority of patients with cancer benefit from these treatments, highlighting the need to identify new cells and molecules that could be exploited in the next generation of immunotherapy. Harnessing innate immunity is emerging as a promising therapeutic approach to improving the efficacy of cancer treatment and overcoming resistance to current immunotherapies targeting T cells. In particular, harnessing NK cells in cancer patients presents the dual advantage of inducing the killing of tumor cells, but also of participating in a multicellular immune response against tumor cells. Correlations have been observed between patient clinical outcome and NK cell infiltration at the tumor bed or cytotoxicity of peripheral NK cells, in particular in breast cancer.

OBJECTIFS

We propose here to dissect the role of NK cells and type 1 innate lymphoid cells (ILC1s) in breast cancer with the aim of proposing innovative treatments in these diseases based on their manipulation using antibody-based drugs.

This challenging project is conceived in order to define the heterogeneity of the NK cell and ILC1 compartments in luminal A/B and TNBC patients and to correlate with clinical outcomes. The results obtained in the frame of this project will also document, for the first time, the transcriptomic signature of NK cells and ILC1 in the context of HER2low/HER2+ metastatic breast cancer prior to and after Trastuzumab-Deruxtecan. In addition, we will evaluate the conception of a new treatment for HER2low/HER2+ breast tumor patients, which is a NK cell engager (NKCE) targeting HER2. NKCEs have the advantage of bringing NK cells and tumor cells together and are more potent than bi-specific mAbs currently used in clinics. We will also assess the potency of a NKCE in a tumor agnostic manner, as recent results have shown that trispecific antibodies that engage NK cells independently of a tumor antigen (TA) promote NK cell activation allowing in vivo tumor control, at some extent. As such, tumor agnostic NKCE are likely to be successful in others cancers beyond breast cancer.

Publications

- Vivier, E, Rebuffet L, Narni-Mancinelli E, *et al.* **Natural Killer cell therapies.** Nature. *In press.*
- Gauthier L, *et al.*, Vivier E. **Control of acute myeloid leukemia by a trifunctional NKp46-CD16a-NK cell engager targeting CD123.** Nat Biotechnol. 2023 Sep;41(9):1296-1306.
- Mosele F, *et al.*, André F. **Trastuzumab deruxtecan in metastatic breast cancer with variable HER2 expression: the phase 2 DAISY trial.** Nat Med. 2023 Aug;29(8):2110-2120.
- André F, *et al.* **Trastuzumab deruxtecan versus treatment of physician's choice in patients with HER2-positive metastatic breast cancer (DESTINY-Breast02): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial.** Lancet. 2023 May 27;401(10390):1773-1785.
- Demaria O, *et al.* **Antitumor immunity induced by antibody-based natural killer cell engager therapeutics armed with not-alpha IL-2 variant.** Cell Rep Med. 2022 Oct 18; 3(10):100783.
- Narni-Mancinelli E, Vivier E. **Advancing natural killer therapies against cancer.** Cell. 2022 Apr 28; 185(9):1451-1454.
- Tolaney SM, *et al.*, André F. **Abemaciclib plus trastuzumab with or without fulvestrant versus trastuzumab plus standard-of-care chemotherapy in women with hormone receptor-positive, HER2-positive advanced breast cancer (monarchHER): a randomised, open-label, phase 2 trial.** Lancet Oncol. 2020 Jun; 21(6): 763-775.
- Gauthier L, *et al.*, Narni-Mancinelli E, Vivier E. **Multifunctional Natural Killer Cell Engagers Targeting NKp46 Trigger Protective Tumor Immunity.** Cell. 2019 Jun 13; 177(7):1701-1713.e16.
- Bertucci F, *et al.*, André F. **Genomic characterization of metastatic breast cancers.** Nature. 2019 May; 569(7757): 560-564.
- André P, *et al.*, Narni-Mancinelli E, Cohen RB, Vivier E. **Anti-NKG2A mAb Is a Checkpoint Inhibitor that Promotes Anti-tumor Immunity by Unleashing Both T and NK Cells.** Cell. 2018 Dec 13; 175(7):1731-1743.e13.



DOG-MELANOMA

CARACTÉRISATION DES MÉLANOMES CANINS COMME MODÈLES « FIDÈLES » DE SOUS-TYPES DE MÉLANOMES HUMAINS : ENJEUX GÉNÉTIQUES ET THÉRAPEUTIQUES

📍 RENNES : CNRS Rennes - Institut de Génétique & Développement de Rennes
SOUTENU DEPUIS 2023

Dr Catherine ANDRE & Pr Marie-Dominique GALIBERT

CONTEXTE

Chez l'Homme, les mélanomes muqueux (MM) sont rares et moins bien caractérisés que les mélanomes cutanés (MC). Ils sont situés dans des zones non-exposées au soleil : les muqueuses oro-pharyngées, nasales, vulvo-vaginales et annales. Leur pronostic est très réservé, avec des traitements peu ou pas efficaces. La survie à 5 ans n'excède pas 20-35%. L'origine géographique et ethnique des patients et la localisation anatomique des mélanomes constituent des facteurs de risque importants. L'exploration fonctionnelle des ARN non codants (microARN, longs non-codants et circulaires), supporte de nouveaux modes de régulation et apporte des éléments majeurs dans la compréhension des mécanismes oncogéniques et de résistance aux traitements.

Les chiens développent aussi naturellement des mélanomes, certaines races sont prédisposées à certains sous-types. Les mélanomes buccaux canins, sont fréquents dans certaines races et de très mauvais pronostics. Ils présentent des caractéristiques cliniques, histologiques, génétiques et thérapeutiques très similaires à ceux des MM humains. Ils constituent donc une source éthique très riche.

OBJECTIFS

Relever les défis des mélanomes rares non soignés à ce jour par un projet de recherche comparatif en génomique/génétique/épigénétique chez l'Homme et le chien.

- Chez le chien :** collecter 100 nouveaux cas de mélanomes via le CRB Cani-DNA et développer des cultures cellulaires primaires de Mélanomes.
- Chez l'Homme :** obtenir une 30aine de cas de MM humains via le réseau RICMel.
- Déterminer le taux de remaniements chromosomiques « SV »** par séquençage génomique et les signatures mutationnelles (RNAseq) de cas de mélanomes canins et humains et cataloguer les ARN non-codants.
- Corréler les taux de « SV » et les signatures transcriptionnelles,** identifier les locus communs entre le chien et l'homme, caractériser ces cibles thérapeutiques candidates.

5. Tester de nouvelles cibles thérapeutiques et leurs molécules potentielles en cultures cellulaires canines pour envisager ensuite des essais cliniques chez le chien et l'homme.

RÉSULTATS

L'équipe « génétique du chien » vise à décrypter la génétique des mélanomes canins : la prédisposition et les altérations somatiques. Elle a montré que les MM buccaux se classent en 2 groupes, comme chez l'Homme, selon leur taux de réarrangements chromosomiques, et que certains remaniements sont corrélés à un faible taux de survie. L'équipe possède un savoir unique dans la culture primaire de Mélanomes canins, à partir de tissus collectés par le CRB Cani-DNA (dont le coordinateur est responsable scientifique).

L'équipe « Expression des Gènes et Oncogénèse » vise à décrypter les mécanismes génétiques et épigénétiques qui supportent la transformation tumorale et qui sous-tendent la plasticité des cellules tumorales dans leur capacité à évoluer et résister aux traitements thérapeutiques. L'équipe a proposé et démontré de nouveaux concepts de régulation des cellules de mélanome.

Ainsi, ce projet sera réalisé grâce aux expertises complémentaires des 2 équipes sur la génétique et la mécanistique des mélanomes, de leur force en bioinformatique notamment sur l'analyse du répertoire des ARN non-codant et de leurs collections uniques de prélèvements de mélanomes canin et humains, adossés à l'histoire naturelle de la maladie.

Publications

- Gautron A, *et al.* **Human TYRP1: Two functions for a single gene?** Pigment Cell Melanoma Res. 2021 Sep; 34(5):836-852.
- Paris A, *et al.* **The Ahr-SRC axis as a therapeutic vulnerability in BRAFi-resistant melanoma.** EMBO Mol Med. 2022 Dec 7; 14(12):e15677.
- Prouteau A, *et al.* **Circulating tumor DNA is detectable in canine histiocytic sarcoma, oral malignant melanoma, and multicentric lymphoma.** Sci Rep. 2021 Jan 13;11(1):877. Doi:10.1038/s41598-020-80332-y. PMID:33441840; PMCID:PMC7806858.
- Prouteau A, *et al.* **Canine oral melanoma genomic and transcriptomic study defines two molecular subgroups with different therapeutic targets.** Cancers (Basel). 2022 Jan 6; 14(2):276. Doi:10.3390/cancers14020276.
- Quémener AM, *et al.* **Non-canonical miRNA- RNA base-pairing impedes tumor suppressor activity of miR-16.** Life Sci Alliance. 2022 Oct 6; 5(12):e202201643.



ENERGISED

IMPACT DU MICROBIOTE INTESTINAL SUR LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE DES CELLULES HÔTES : RÔLE DANS LA SANTÉ ET DANS LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN

PARIS : Fondation Sorbonne Université - AHPH - Sorbonne Université
SOUTENU DEPUIS 2023



IMMUNOLOGIE

Pr Harry SOKOL

CONTEXTE

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), dont la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, sont des pathologies immunitaires caractérisées par une inflammation intestinale inappropriée. Leur incidence a augmenté de façon spectaculaire dans les pays occidentaux au cours des dernières décennies, ce qui confirme le rôle des facteurs environnementaux. Malgré le développement de nouveaux traitements, les MICI sont insuffisamment contrôlées chez une grande partie des patients, induisant une altération de la qualité de vie et un fardeau socio-économique. Il est donc urgent de mieux comprendre la pathogénèse et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Dans ce contexte, le microbiote intestinal a été reconnu comme un acteur important des MICI. En outre, une altération du métabolisme énergétique des cellules intestinales et immunitaires a été suggérée dans la pathogénèse. Les concepts classiques d'interaction hôte-microbe reposent sur la reconnaissance de motifs microbiens conservés par des récepteurs de l'immunité innée ou sur l'action de molécules microbiennes sur un récepteur de la cellule hôte. Cependant, le métabolisme énergétique joue un rôle crucial dans la mise en place de la réponse cellulaire appropriée, et des données émergentes indiquent que le microbiote intestinal peut l'affecter directement.

L'hypothèse motivant le projet ENERGISED est que l'altération du microbiote intestinal dans les MICI contribue à l'altération du métabolisme énergétique des cellules hôtes et à la pathogénèse.

OBJECTIFS

Les objectifs d'ENERGISED sont (i) d'identifier les micro-organismes et les métabolites dérivés du microbiote ayant un impact sur le métabolisme énergétique de la cellule hôte et les mécanismes impliqués et (ii) de déchiffrer les conséquences des altérations du microbiote intestinal sur le métabolisme énergétique de la cellule hôte dans les MICI, et (iii) de concevoir de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur le microbiote pour manipuler l'état énergétique de la cellule hôte dans les MICI.

RÉSULTATS

La compréhension du rôle du microbiote intestinal dans la physiologie de l'hôte et la pathogénèse est d'une importance cruciale, car il est impliqué dans de nombreuses maladies humaines, notamment les MICI, le cancer, le syndrome métabolique et les troubles neuropsychiatriques. Le projet ENERGISED relèvera donc des défis importants en produisant des résultats révolutionnaires pour une meilleure compréhension du dialogue hôte-microbiote.

Ces résultats ouvriront la voie au développement de nouveaux traitements pour les MICI d'abord, puis pour de nombreuses autres maladies affectées par une altération de la dialogue hôte-microbiote.

Publications

1. Michaudel C, Danne C, Agus A, [...] Sokol H. **Rewiring the altered tryptophan metabolism as a novel therapeutic strategy in inflammatory bowel diseases.** Gut. 2023 Jul ; 72(7):1296-1307. doi: 10.1136/gutjnl-2022-327337. Epub 2022 Oct 21. PMID: 36270778 ; PMCID: PMC10314090.
2. Danne C, Michaudel C, [...] Richard ML, Langella P, El-Benna J, Marteyn B, Sokol H. **CARD9 in neutrophils protects from colitis and controls mitochondrial metabolism and cell survival.** Gut. 2023 Jun ; 72(6):1081-1092. doi: 10.1136/gutjnl-2022-326917. Epub 2022 Sep 27. PMID: 36167663.
3. Lavelle A. and Sokol H. (2020). **Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease.** Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 17, 223–237.
4. Michaudel C. and Sokol H. (2020). **The Gut Microbiota at the Service of Immunometabolism.** Cell Metab. 32, 514-523.
5. Agus A., Planchais J. and Sokol H. (2018). **Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease.** Cell Host Microbe 23, 716-724.
6. Lamas B., Richard M.L., Leducq V., Pham H.-P., Michel M.L., Da Costa G., Bridonneau C., Jegou S., Hoffmann T.W., Natividad J.M., et al. (2016). **CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands.** Nat. Med. 22, 598-605.



HAPLOGREF

ALLOGREFFE HAPLO-IDENTIQUE : UN DONNEUR POUR TOUS !

📍 PARIS : Fondation de l'APHP - Centre de référence des aplasies médullaires acquises et constitutionnelles - Hôpital Saint-Louis - Université de Paris
SOUTENU DEPUIS 2022

Pr Régis PEFFAUT DE LATOUR

CONTEXTE

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-CSH) est utilisée pour le traitement de cancers du sang (leucémies, myélodysplasies) ou de certaines hémopathies bénignes.

Dans le cadre des hémopathies malignes, cette technique repose sur le principe de l'effet « greffe contre leucémie » (GVL). Elle est indiquée chez des patients atteints de cancer du sang dont on sait dès le diagnostic, compte tenu des caractéristiques onco-génétique de la maladie, que les traitements de chimiothérapie ou d'immunothérapie autre que l'allogreffe ne suffiront pas pour espérer une guérison. L'enjeu est alors de greffer un nouveau système immunitaire chez le patient malade dès la rémission obtenue à partir d'un donneur sain. Ce nouveau système immunitaire reconnaîtra comme pathologique les cellules cancéreuses résiduelles du patient et les détruira évitant ainsi la rechute.

L'allo-CSH peut aussi être utilisée en cas de dysfonction non cancéreuse de la moelle osseuse. On remplace alors la moelle disparue, détruite par le système immunitaire du malade ou à cause d'une maladie génétique (aplasie médullaire) ou une moelle inefficace (drépanocytose).

L'allo-CSH concerne chaque année environ 2 000 patients en France (20 à 25 000 patients par an en Europe), atteints de cancers du sang pour 80% d'entre eux ou de maladie bénigne pour 20%. En l'absence d'allo-CSH, ces patients n'ont pas d'autre option thérapeutique curative. La limitation majeure à l'allo-CSH est la disponibilité d'un donneur. En effet, les exigences en termes de compatibilité dans le domaine des allogreffes de CSH sont beaucoup plus importantes que celles des transplantations d'organes « classiques ». L'idéal est bien entendu de trouver un donneur dans la famille ayant reçu le même patrimoine génétique de ses parents. Cela concerne environ 1/3 des patients. L'étape suivante est la recherche d'un donneur compatible sur le registre international de donneurs volontaires (environ 40 millions de donneurs disponibles dans le monde). Cela permet de trouver un donneur pour un 1/3 des patients qui n'ont pas de donneur dans la fratrie. Il reste néanmoins un tiers des malades sans donneur et donc sans chance véritable de guérison. Pour ces malades, il est possible d'utiliser des donneurs non apparentés non parfaitement compatibles dits donneurs « alternatifs » mais les résultats sont nettement moins bons.

Le groupe de Saint-Louis a développé dans cette situation particulière les greffes à partir de sang placentaire riche en cellules souches hématopoïétiques immatures, permettant une compatibilité moins exigeante entre donneur et receveur. Ces greffes restent néanmoins très complexes sur le plan technique et sont difficiles à réaliser dans tous les hôpitaux et dans tous les pays. Il est aussi possible d'utiliser un donneur non apparenté du registre international avec une seule incompatibilité mais du fait de cette incompatibilité, les conflits immunitaires sont majorés entre le donneur et le receveur avec des risques. Ainsi, ces greffes sont associées à des risques plus importants de rejet d'une part, et d'autre part de réaction du greffon contre l'hôte (GvHD : Graft versus Host Disease) qui attaque non seulement les cellules cancéreuses de la greffe (principe et intérêt de la greffe) mais aussi les tissus du receveur (tube digestif, peau et foie essentiellement) pouvant parfois entraîner le décès.

En 2008, l'équipe de Baltimore (USA) a mis au point une technique d'allo-CSH pour les patients n'ayant pas de donneur compatible à partir de donneurs familiaux partiellement compatibles (50%) dits donneurs haplo-identiques. L'originalité de la procédure a été d'ajouter des doses de chimiothérapie après la greffe qui détruit les cellules incompatibles proliférant immédiatement après l'injection du greffon et de préserver les cellules souches tolérantes du patient qui ne prolifèrent pas, n'incorporent donc pas la chimiothérapie et sont donc protégées. Ces cellules résiduelles sont ensuite capables de reconstituer un tissu hématopoïétique et un système immunitaire normaux.

OBJECTIFS

L'objectif global du programme HAPLOGREF est de confirmer que les greffes haplo-identique peuvent remplacer en toute sécurité à terme les donneurs alternatifs mais aussi les donneurs compatibles des fichiers internationaux identiques à travers 4 protocoles prospectifs de recherche clinique intéressant l'aplasie médullaire ou la myélodysplasie et mis en place par les services hématologie greffe et adolescents jeunes adultes de Saint-Louis. Plus spécifiquement, les objectifs principaux des 4 projets sont définis comme suit :

- **Projet HaploEmpty** : Évaluation du taux de survie à 2 ans (80% attendu versus 60% chez les patients contrôles historiques), sur une cohorte de 31 patients atteints d'aplasie médullaire réfractaire après une ligne de traitement par immunosuppresseur
- **Projet HaploRescue** : Évaluation du taux de survie à 1 an (50% attendu versus 30% chez les patients contrôles historiques), sur une cohorte de 31 patients atteints d'hémopathie maligne ou non maligne en échec d'une première ou 2^{ème} allogreffe de cellules souches hématopoïétiques pour une hémopathie maligne ou non maligne
- **Projet HaploFanconi** : Évaluation du taux de survie à 2 ans (70% attendu versus 50% chez les patients contrôles historiques), sur une cohorte de 18 patients atteints de la maladie de Fanconi, maladie rare d'origine constitutionnelle dont la greffe est le seul traitement curatif de l'atteinte hématologique
- **Projet First-allo-MDS** : Évaluation de la possibilité de réaliser une allogreffe une fois le donneur familial identifié en moins de 6 semaines chez 90% des patients, sur une cohorte de 55 patients atteints d'une myélodysplasie

L'enjeu de pouvoir réaliser une greffe pour quasiment tous les malades sans donneur compatible dans la famille, greffe qui ne pose ni problème technique particulier, réalisable à l'échelle mondiale et avec un coût réduit.

RÉSULTATS

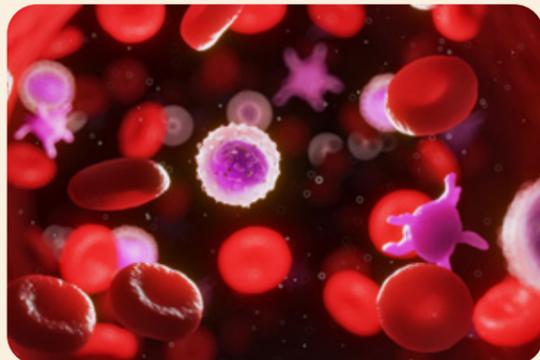
Les 4 projets de recherche clinique couverts par le soutien de la Fondation MSDAVENIR sont promus par l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris et pour 3 d'entre eux ont été initiés après obtention des autorisations de l'autorité compétente ANSM et des comités de protection des personnes (CPP) attribués aux recherches. Pour le projet First-allo-MDS, l'autorisation ANSM est en attente, l'avis favorable du CPP Ile de France III a été obtenu.

Deux des 4 projets ont inclus des patients avec, au 20 Novembre 2023, 19 patients inclus (soit 61%) pour le projet HaploEmpty, 4 patients inclus (13%) pour le projet HaploRescue, 2 inclusions prévues d'ici la fin d'année pour le projet HaploFanconi et un démarrage de la recherche First-allo-MDS prévu fin de l'année 2023, au plus tard en janvier 2024.

Les attendus d'avancement sont spécifiques à chaque étude avec :

1. pour le projet **HaploEmpty** un recrutement conforme aux prévisions et une fin de recrutement espérée en décembre 2024,
2. le projet **HaploRescue** avec des patients présentant un contexte clinique complexe d'où une situation plus difficile de recrutement mais avec un objectif d'atteindre 10 patients d'ici fin 2024,
3. le projet **HaploFanconi** avec un attendu d'inclusion porté à 5 patients en 2024 pour cette pathologie très rare, et
4. le projet **First-allo-MDS** dont un large recrutement est attendu.

Les actions de communications seront poursuivies en 2024 avec, en plus des newsletters initiées pour chacun des projets auprès des centres français greffeurs impliqués dans la recherche clinique et la présentation des projets au sein des conseils scientifiques de la Société Française de Greffe et de Thérapie Cellulaire impliquée et soutenant le projet, le souhait de créer un événement autour de la thématique HAPLOGREF pour un recrutement optimal des 4 projets en cours.



IMMUNO-CLONE

CHARACTERIZATION OF AUTO-IMMUNITY AND AUTO-INFLAMMATION ASSOCIATED WITH CLONAL HEMATOPOIESIS

PARIS : Institut IMAGINE - Université Paris Cité - Institut Necker Enfants-Malades - Saint-Antoine Sorbonne Université. SOUTENU DEPUIS 2022

Pr Arsène MEKINIAN, Pr Olivier HERMINE,
Dr Julien ROSSIGNOL & Pr Sophie GEORGIN-LAVIALLE

CONTEXTE

Clonal hematopoiesis is characterized by the presence of an acquired somatic mutation in hematopoietic cells. The prevalence of these mutations increases with age and are most frequently without clinical significance, and called clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP). Some of these somatic mutations (or combination) can induce also secondary autoimmune/autoinflammatory manifestations (SAIDs) associated or not with myeloid neoplasms. We propose to call these entities as "clonal hematopoiesis of immune significance" (CHIS). The recent example of CHIS is the discovery of UBA1 somatic mutation, which allowed to describe the VEXAS syndrome, an autoinflammatory disease from clonal origin associated or not with myelodysplastic syndrome.

Our consortium is a leader (Prof. Mekinian on behalf MINHEMON and French VEXAS group) in the field of SAIDs associated with hematological neoplasms and has set up the first Mondial prospective phase II trial investigating the efficacy of azacytidine in the treatment of SAIDs related with hematological neoplasms. In addition, our consortium is a leader in the field of innate or acquired auto-inflammation among adults in France (Prof. GeorGIN-Lavialle on behalf CEREMAIA). Furthermore, Prof GeorGIN-Lavialle and Prof Mekinian are cofounders and head of the French national VEXAS group and database. Finally, Prof. Hermine is the head of the Laboratory of cellular and molecular mechanisms of hematological disorders and therapeutical implications (INSERM U1163, Institut Imagine), where fundamental work in these areas is performed. His areas of expertise will allow us to study the hematological and immunological features observed with SAIDs and particularly related to VEXAS syndrome.

OBJECTIFS

The aims of this project are to:

1. Characterize the hematological and immunological aspects of MDS/CMML-CHIS (Work Package 1).
2. Characterize the CHIS in autoinflammatory diseases including familial Mediterranean fever (FMF) and hyperinflammatory gammopathy (HiG) (Work Package 2).
3. Characterize the CHIS and innate immune cells from the blood and artery lesions in giant cells arteritis (Work Package 3).
4. Characterized the physiopathology anemia in VEXAS with respect to erythropoiesis and red cells (Wok Package 4).

RÉSULTATS

Work package 1:

- MDS-CHIS (N=17): MDS-CHIS patients have higher levels of IL-1 β , IL-16 and IL-1RA compared with controls and decrease of TNF- β compared with MDS patients. MDS-CHIS patients have decrease of non-classical monocytes compared with MDS patients. No difference for calprotectin level.

- CMML-CHIS (N=16): Exome sequencing: several rare variants described in interferon pathway (TRES1 and IFI1) and inflammasome (TNFAIP3 and RIPK1). CMML-CHIS patients have higher levels of calprotectin (S100A8/A9 protein) and secretion of cytokines and chemokines involved in innate and adaptive immunity than control CMML patients. CMML-CHIS patients have a higher pDC population and lower HLA-DR expression by classical monocytes.

Work package 2: CHIS in autoinflammatory diseases

- CHIS among patients with HiG complicated or not with AA amyloidosis (AAA) (n=33): We finally found out 3 gene candidates in 3 different patients including on NLRP2 inflammasome. One manuscript is submitted on this result. We also studied CHIS in 25 elderly patients with FMF and already detected 15 somatic mutations in genes involved in clonal hematopoiesis, which has never been described before; one manuscript is in preparation on this topic.

Work package 3:

- GCA patients (N=43): CH in PBMC have been found in 49% patients, including 60% epigenetics pathways and 30% spliceosome. CH was observed in 3 out of 4 patients in the temporal artery. Using spectral cytometry, increased CD62L expression on PMN was found in GCA patients with active disease compared with controls, MDS/CMML-CHIS and others vasculitis. In addition, GCA patients in remission showed significant decrease of CD62L expression.

Work package 4:

- First, we have shown that Red cells in VEXAS are normal without morphological abnormalities, probably from residual hematopoiesis (normal, clonal or MDS). We are currently studying protein Ubiquitination that we expect to be normal in peripheral red cells to confirm this hypothesis. Second, we have studied erythropoiesis by performing CRISPR KI of UBA1 mutations and show that erythroid progenitors are dying as a consequence of p53 accumulation, which may explain why no abnormal red cells are observed. In contrast, Monocytes and neutrophils development is less affected with normal differentiation, no apoptosis but a slight proliferation diminution.

Publications

1. **Clinical features and genomic landscape of myeloproliferative neoplasm (MPN) patients with autoimmune and inflammatory diseases (AID).** Elessa D, *et al.* 2023 Aug ; 37(8):1741-1744. doi:10.1038/s41375-023-01967-0. Epub 2023 Jul 11. PMID: 37433887.
2. **Dysimmune manifestations associated with myelodysplastic neoplasms and chronic myelomonocytic leukaemias.** Jachiet V, *et al.* Bull Cancer. 2023 Nov;110(11):1147-1155. doi:10.1016/j.bulcan.2023.02.023. Epub 2023 Jul 4. PMID: 37414632 Review. French.
3. **What role for somatic mutations in systemic inflammatory and autoimmune diseases associated with myelodysplastic neoplasms and chronic myelomonocytic leukemias?** Zhao LP, *et al.* Leukemia. 2023 Jun;37(6):1186-1190. doi:10.1038/s41375-023-01890-4. Epub 2023 Apr 6. PMID: 37024519 Review. No abstract available.
4. **Myelodysplastic Syndrome associated TET2 mutations affect NK cell function and genome methylation.** Boy M, *et al.* Nat Commun. 2023 Feb 3;14(1):588. doi: 10.1038/s41467-023-36193-w. PMID: 36737440 Free PMC article.
5. **Clinical and pathological features of cutaneous manifestations in VEXAS syndrome: A multicenter retrospective study of 59 cases.** Zakine É, *et al.* National French VEXAS Study Group (NFVS). J Am Acad Dermatol. 2023 Apr ; 88(4):917-920. doi: 10.1016/j.jaad.2022.10.052. Epub 2022 Nov 5. PMID: 36343774.





| FONDS DE SOUTIEN À LA RECHERCHE DANS LES SCIENCES DU VIVANT |