

DIM
ITAC



Domaine de Recherche et d'Innovation Majeur

Région
île de France

Journée Scientifique ITAC 2024

Vendredi 22 novembre 2024

13h

Auditorium du bâtiment de Recherche
Faculté de médecine Paris Saclay - Hôpital de Bicêtre

GUSTAVE
ROUSSY
CANCER CAMPUS
GRAND PARIS

université
PARIS-SACLAY

PROGRAMME

13h00 Accueil

13h30 Présentation du DIM ITAC

Xavier MARIETTE et Caroline ROBERT – Porteurs scientifiques du DIM

13h40 Autour du mélanome

13h40 Vers une personnalisation des traitements du mélanome métastatique, grâce au développement d'avatar du microbiote de patient

Patricia LEPAGE – UMR1319, Institut MICALIS, INRAE – JOUY-EN-JOSAS

14h00 Melavatar : modélisation de la relation hôte/tumeur dans le mélanome

Samad MOHAMMADNEZHADDARYANI – Inserm U981, Gustave Roussy – VILLEJUIF

14h20 Nouvelles techniques biologiques et d'imagerie appliquées à l'immuno-oncologie

14h20 Définir la contribution du génome sombre dans le transcriptome des cellules épithéliales thymiques

Marianne BURBAGE – Immunité et Cancer U932, Institut Curie – PARIS

14h40 IT-PET: Comparative evaluation of localized vs systemic injection for immunotherapy distribution in the context of internal radiotherapy

Anne Laure GRINDEL – BioMaps, U1281, CEA – ORSAY

15h00 Base de données interopérable ITAC

15h00 Présentation de la base de données

Edouard BARTHUET, Frederik JOLY, Hervé SCAPAGNA – Coexya – LYON

15h20 Using natural language processing to collect patient data from rheumatologic toxicities of ICI: the MSKTOX cohort

Samuel BITOUN – Inserm U1184, ImVA-HB, CEA – KREMLIN-BICETRE

15h40 Pause

16h00 Modèles d'études précliniques

16h00 Optimisation des organoïdes dérivés du cancer pour l'étude des maladies auto-immunes salivaires – Maladie de Sjögren et syndrome sec induit par l'immunothérapie du cancer

Negaar GOUDARZI – Inserm U1184, ImVA-HB, CEA – KREMLIN-BICETRE

16h20 REDD1 is a gatekeeper of murine hematopoietic stem cell functions during stress responses

Marie Laure ARCANGELI – Inserm UMR 1170, Gustave Roussy – VILLEJUIF

16h40 Analyse de modèles cellulaires et organoïdes en immunofluorescence multiplex à haut débit et haute résolution

Mehdi TOUAT – Inserm UMRS 1127, Institut du Cerveau – PARIS

17h00 Hématopoïèse, Cancer et Immunité

17h00 Nouvelles stratégies d'immunothérapies dans les néoplasmes myéloprolifératifs

Isabelle PLO – Inserm U1287, Gustave Roussy – VILLEJUIF

17h20 CAR T cells reside in the bone marrow and inhibits healthy hematopoiesis

Camille BIGENWALD – Inserm U1015, Gustave Roussy – VILLEJUIF

17h40 Discours de clôture

Philippe BOURIACHI, Conseiller régional d'Île-de-France

Vers une personnalisation des traitements du mélanome métastatique, grâce au développement d'avatar du microbiote de patient

Patricia LEPAGE

Institut Micalis, UMR 1319 - INRAE - JOUY-EN-JOSAS

Malgré le développement d'innovations thérapeutiques cruciales en cancérologie au cours de la dernière décennie, les données relatives aux trajectoires individuelles de réponse à ces traitements restent parcellaires. La métagénomique du microbiote a mis en lumière un lien entre nos microbes, la progression du cancer et la réponse au traitement par immunothérapie(s).

Bien que ces résultats aient permis d'envisager des approches empiriques modulant le microbiote intestinal afin d'améliorer l'efficacité de l'immunothérapie, les mécanismes sous-tendant l'impact du microbiote sur la réponse au traitement sont loin d'être résolus, notamment du fait d'une importante variabilité interindividuelle du microbiote. Cependant, les progrès liés aux technologies de culture microbienne permettent de reproduire ex vivo des microbiotes fonctionnels proches de ceux de l'homme (« avatars » de microbiote) et de recréer des conditions nutritionnelles et environnementales dans des bioréacteurs (également appelés digesteurs anaérobies ou fermentateurs), permettant un suivi longitudinal des modifications/adaptations microbiennes.

L'ambition de MelanoCult est d'exploiter une nouvelle technologie de micro-fermentation (micro-bioréacteur couplé à de la microfluidique) pour développer in vitro des avatars de microbiote de patients atteints de mélanome métastatique, afin de tester et de proposer des stratégies de modulation microbienne personnalisées visant à améliorer la réponse au traitement par immunothérapie contre le cancer.

Melavatar : modélisation de la relation hôte/tumeur dans le mélanome

Samad MOHAMMADNEZHADDARYANI

Inserm U981, Gustave Roussy – VILLEJUIF

Patient-derived models have opened up new horizons in the era of current medical research. These model systems provide scientists with precious tools that closely mimic patients' tumors. On one hand, these models retain the key genomic and molecular characteristics of the parental tumors. On the other hand, they better represent the heterogeneity and diversity compared to traditional cell-line derived models. Therefore, patient-derived models allow scientists to study the concept of cancer in systems that closely resemble clinical scenarios. These models serve as critical platforms for preclinical drug discovery and development. Furthermore, they support precision medicine approaches for cancer treatment, provide accessible resources for researchers, and facilitate data integration and analysis.

Regarding the importance of patient-derived models, the Equipe Mélanome and Service Dermatologie, in collaboration with Département de Biologie et Pathologie Médicale are developing a biorepository of patient-derived models from patients with melanoma at Institut Gustave Roussy.

The aim of Melavatar is to pave the way toward studying the relationship between melanoma and its microenvironment. In this project, the melanoma tumor tissue is taken along with the peripheral blood mononuclear cells of patients. The diverse living models that are established from patients' tumors include ex vivo patient-derived melanoma cell cultures, tumor-infiltrating lymphocytes, organotypic patient-derived tumor fragment cultures, tumor slice cultures, tumoroids, and patient-derived xenograft models. So far, 60 patients have been included in Melavatar. The model systems of Melavatar will be clinically annotated with molecular information.

These models will serve as a resource for academic partnerships to facilitate personalized medicine approaches and drug discovery efforts in melanoma.

Définir la contribution du génome sombre dans le transcriptome des cellules épithéliales thymiques

Marianne BURBAGE

Immunité et Cancer U932, Institut Curie – PARIS

Comprendre ce qui rend les cellules tumorales visibles par le système immunitaire est une question centrale pour améliorer les protocoles d'immunothérapie. Le système immunitaire peut reconnaître des fragments de protéines intracellulaires (appelés antigènes) exposés sur la membrane des cellules. Certaines cellules immunitaires, les lymphocytes T (LT), peuvent détecter ces motifs à la surface des cellules, et réagissent uniquement contre ceux qui sont "anormaux".

Classiquement, les études se sont intéressées aux antigènes dérivant des mutations que les cellules cancéreuses accumulent. Mais on sait depuis peu que dans le cadre d'une tumeur, les lymphocytes T peuvent reconnaître certains antigènes dérivant de certaines régions du génome (dites « sombres ») qui ne sont pas normalement exprimées mais qui se « réveillent » pendant le processus d'oncogenèse.

Ces antigènes « sombres » représentent des cibles prometteuses, mais sont toutefois mal connus d'un point de vue immunologique. Une question essentielle pour comprendre s'ils constituent des cibles intéressantes pour l'immunothérapie est d'établir s'ils sont considérés comme appartenant au « soi » immunitaire. En effet, le système immunitaire est « éduqué » pour ne pas reconnaître les antigènes « normaux », ce qui aboutirait à une réaction auto-immune. Ce processus d'éducation a lieu dans un organe spécialisé appelé thymus. Le projet proposé ici vise à définir l'expression des antigènes « sombres » dans les cellules du thymus qui participent à l'éducation du système immunitaire.

Les données générées dans ce projet constitueront une ressource utile pour toute la communauté scientifique et permettront d'affiner la sélection de cibles pour améliorer les protocoles d'immunothérapie et de vaccination anti-tumorale.

IT-PET: Comparative evaluation of localized vs systemic injection for immunotherapy distribution in the context of internal radiotherapy

Anne-Laure GRINDEL

BioMaps, U1281, CEA – ORSAY

Although immunotherapies have revolutionized the management of patients with advanced cancer, many of them are resistant to these treatments. One of the hypotheses is the very low immunotherapy accumulation into the complex tumor microenvironment. Intratumoral (i.t.) administration could help in overcoming this resistance, by concentrating the therapy locally, while reducing exposure of healthy organs and the associated side effects, which is of high interest in the case of internal radiotherapy. In the context of personalized medicine, understanding the biodistribution of immunotherapy after systemic or i.t. injection into injected and non-injected lesions could help in choosing the best route and treatment.

C57BL/6 mice were implanted with two CT26 subcutaneous tumors. Murine anti-CTLA-4 was radiolabeled with zirconium 89 ($t_{1/2} \text{ } ^{89}\text{Zr} = 3.3 \text{ days}$) prior to intravenous (i.v.) or i.t. injection for immunoPET imaging. Biodistribution and pharmacokinetic were derived from PET imaging. Tumor responses were correlated to the injected doses (from 20 to 200 μg per injection). The tumoral microenvironment was characterized by flow cytometry and immunohistochemistry.

I.t. administration enables up to 8% of the injected dose to be retained in the injected tumor 7 days after injection. The dose found in the non-injected tumor is similar to that found in tumors from i.v.-treated mice (7.5%ID.cm⁻³). Doses in other organs such as the liver, kidney and spleen were lower in the i.t. than in the i.v. group. Lastly, prolonged exposure of tumors to anti-CTLA-4 was associated with a complete response and an increase in CD8⁺ in the tumor compartment.

The pharmacokinetic parameters obtained by immunoPET imaging thus show that the i.t. route reduces exposure of healthy organs to immunotherapies, while inducing a therapeutic response equivalent to the i.v. route.

Optimisation des organoïdes dérivés du cancer pour l'étude des maladies auto-immunes salivaires – Maladie de Sjögren et syndrome sec induit par l'immunothérapie du cancer.

Negaar GOUDARZI

Inserm U1184, ImVA-HB – CEA - KREMLIN-BICETRE

La maladie de Sjögren (SjD) est une maladie auto-immune systémique, caractérisée par un syndrome sec et des manifestations systémiques. Les cellules épithéliales des glandes salivaires (SGEC) jouent un rôle central dans la pathogenèse de la SjD, étant à la fois cibles et acteurs à travers leurs interactions avec les cellules immunitaires. Les modèles in vitro actuels ne reproduisent pas la complexité des glandes salivaires, d'où la nécessité de développer des modèles innovants.

Trois objectifs majeurs ont été définis : 1) développer et caractériser des organoïdes de glandes salivaires différenciées (DSGO) à partir de biopsies de patients atteints de SjD et de témoins ; 2) valider la fonctionnalité des DSGO et développer des méthodes pour la mesurer ; 3) évaluer l'effet des médicaments sur ces organoïdes.

Les biopsies de glandes ont été dissociées, encapsulées dans une matrice extracellulaire (ECM), puis cultivées pour former des organoïdes. Après différenciation dans des plaques de 96 puits, les marqueurs SGEC ont été analysés par immunohistochimie et RT-qPCR, complétés par une analyse RNAseq et des tests de gonflement ("swelling assays").

Les organoïdes différenciés ont montré des structures acinaires et des ramifications, confirmant leur différenciation. Les DSGO ont exprimé des marqueurs ductaux (CK5/CK7) et acinaires (AQP5, α -amylase). L'exposition à la pilocarpine a révélé une augmentation notable de la capacité de gonflement dans les DSGO, preuve de leur fonctionnalité sécrétoire. Cette capacité était réduite dans les organoïdes SjD, reflétant les caractéristiques de la maladie. L'exposition au tofacitinib a amélioré la sécrétion, suggérant un rôle de la voie JAK/STAT.

Les travaux se poursuivent pour caractériser les DSGO et progresser vers les immuno-organoïdes, ouvrant la voie à une médecine de précision basée sur les interactions entre épithélium et cellules immunitaires.

REDD1 is a gatekeeper of murine hematopoietic stem cell functions during stress responses

Marie-Laure ARCANGELI

Inserm UMR 1170, Gustave Roussy – VILLEJUIF

In adults, hematopoietic stem cells (HSC) reside in the bone marrow in which they are kept quiescent and undifferentiated. Upon genotoxic stress, HSC get activated, expand and differentiate to sustain blood cell regeneration. Then, they need to go back into quiescence to avoid their exhaustion. Several pathways are involved in HSC activation, including reactive oxygen species (ROS) and mTOR pathways that, at the end of the stress episode, need to be inactivated to preserve HSC integrity and functions. Their deregulation can lead to HSC exhaustion and/or leukemic transformation. Here we investigated the involvement of the stress response protein REDD1 in the HSC response to stress and in leukemic transformation.

Using Redd1-deficient mice, we show that REDD1 participates to HSC maintenance and protects HSC from exhaustion upon chemotherapy or irradiation induced genotoxic stress. Indeed, Redd1-deficient mice are more sensitive to chemotherapy and irradiation than Redd1-competent mice. Moreover, irradiated Redd1-deficient HSC fail to reconstitute efficiently hematopoiesis showing that REDD1 protects them from irradiation-induced defect. By measuring ROS levels at different time points following irradiation, we observe that REDD1 regulates ROS levels in HSC upon genotoxic stress. Finally, we observe that antioxidants can increase Redd1-deficient mouse radioresistance and rescue irradiated Redd1-deficient HSC self-renewal potential, showing that REDD1 protect HSC from stress-induced injuries by lowering ROS levels.

Altogether, our data indicate that REDD1 acts as a gatekeeper of HSC properties upon genotoxic stress. Using public expression database, we finally confirm that high REDD1 expression is associated with bad prognosis in acute myeloid leukemia (AML), suggesting that REDD1 functions is hijacked by leukemic stem cells to escape therapy, and pinpointing REDD1/mTOR/ROS as a potential therapeutic loop to target in AML.

Analyse de modèles cellulaires et organoïdes en immunofluorescence multiplex à haut débit et haute résolution

Mehdi TOUAT

Inserm UMRS 1127, Institut du Cerveau – PARIS



L'imagerie à haut débit est une technique de microscopie optique automatisée et permettant l'analyse d'images d'un grand nombre d'échantillons. Couplée à des marqueurs fluorescents, elle permet l'analyse phénotypique des cellules d'intérêt (e.g. tumorales, immunitaires) et l'évaluation de leur réponse à diverses perturbations (e.g. immunothérapie ou modification génomique) dans des modèles cellulaires 2D ou organoïdes (cultures in vitro en 3D avec architecture et fonctionnalités se rapprochant de celles des tissus dont elles dérivent). Ce projet vise à acquérir un microscope permettant d'imager en microscopie confocale à haut débit et haute résolution des cultures cellulaires 2D, des tissus et des modèles organoïdes, à l'état vivant ou fixé. Ceci permettra l'étude fine d'interactions entre cellules immunitaires et tumorales dans des modèles 3D de nouvelle génération, l'évaluation de nouvelles stratégies d'immunothérapie, et la recherche de médiateurs cellulaires ou moléculaires impliqués dans les toxicités des immunothérapies.

Nouvelles stratégies d'immunothérapies dans les néoplasmes myéloprolifératifs

Isabelle PLO

Inserm U1287, Gustave Roussy – VILLEJUIF

Les néoplasmes myéloprolifératifs classiques BCR ABL-négatifs (NMP) sont des hémopathies malignes clonales dues à des mutations acquises au niveau des cellules souches hématopoïétiques. Celles-ci entraînent la surproduction de cellules myéloïdes dans le sang. Les mutations de la calréticuline (CALRm) sont la deuxième cause la plus fréquente. Elles induisent un décalage du cadre de lecture conduisant à une nouvelle partie C-terminale chargée positivement. Jusqu'à présent, aucun traitement curatif n'était disponible pour ces sous-types de NMP qui présentent des complications thrombo-hémorragiques et des transformations vers des leucémies incurables.

Ces dernières années, notre équipe a identifié le mécanisme précis de la CALRm qui consiste dans sa liaison au récepteur à la thrombopoïétine (MPL) dans le réticulum endoplasmique. Le complexe CALRm/MPL trafique ensuite vers la membrane où CALRm active de façon oncogénique la voie JAK2/STAT. Ainsi, le complexe CALRm/MPL apparaît comme un néoépitope uniquement à la surface cellulaire des cellules mutées, ce qui a ouvert la voie au développement de nombreuses stratégies d'immunothérapie, dont différents anticorps monoclonaux anti-CALRm, des vaccins et des cellules CAR-T.

En collaboration avec Incyte, notre équipe a montré qu'un anticorps monoclonal dirigé contre CALRm (INCA033989) inhibe la signalisation oncogénique JAK2/STAT activée par CALRm et induit la mort des lignées cellulaires et des cellules primaires de patients CALRm sans affecter les cellules normales non mutées. Nous avons également établi qu'il inhibe le développement de la maladie dans un modèle préclinique de souris CALRm en ciblant sélectivement le compartiment des cellules souches initiateuses de la maladie. Enfin, il cible aussi les cellules de leucémies post-NMP CALRm/TP53mut in vivo dans un modèle de xenogreffe de blastes de patients. Ce travail pointe l'INCA033989 comme la première thérapie ciblée pour les NMP et a permis le développement d'un essai clinique précoce.

CAR T cells reside in the bone marrow and inhibits healthy hematopoiesis

Myriam Ben Khelil^{1,2*}, Janesa Srikanthan^{1,2*}, Remy Jelin⁶, Arbab Ahmadreza³, Laura Marcos Kovandzik¹, Roula Amine-Hneineh⁴, Arnaud Pages⁵, Veronique Vergé³, Marine Aglave⁶, Jean Baptiste Micol⁴, Marjorie Sabourin-Cousin², Cyril Quivoron², Christophe Marzac³, Laurence Zitvogel¹, Cristina Castilla-Llorente⁴, **Camille Bigenwald^{1,4}**

1 Inserm U1015, Gustave Roussy, Villejuif, France.

2 Translational Hematology Laboratory, AMMICa, INSERM US23/CNRS UAR3655, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France.

3 Gustave Roussy, Department of Pathology and Laboratory Medicine, Villejuif, France.

4 Department of Hematology, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France.

5 Département d'Epidémiologie et de Biostatistiques, Gustave Roussy, Villejuif, France.

6 Plateforme de Bioinformatique, Gustave Roussy, Villejuif, France. Inserm U1287, Gustave Roussy – VILLEJUIF

Background: Cytokine release syndrome and neurotoxicity are well-described side effects of CAR T cell therapy. A third initially neglected side effect, hematological toxicity (hemato-tox) occurring more than 30 days after CAR T cell infusion, is reported in most patients regardless of the specificity of CAR T cell used (CD19, BCMA, GD2 or claudin18.2). However, the pathophysiology of hemato-tox remains unclear. Our study aims to understand Hemato-tox onset in B cell malignancies patients treated with CD19 CAR T cells to improve their management.

Methods: Bone marrow (BM) were obtained from B cell malignancies patients before (BASELINE, n=4) and 2-3 months after (POST CART, n=10) CAR T cell injection. BM mononuclear cells (BMMC) were collected for subsequent spectral flow cytometry. Bulk and scRNAseq analysis were performed respectively on sorted BMMC (CD34+, CD3+ and CAR T+) and total BMMC. BM plasma was analyzed for 65 analytes using multiplex ELISA assay. Sorted cells (CD3+ and CD14+) derived from peripheral blood mononuclear cell were collected after CAR T cell treatment and NGS technology was performed.

Results: Retrospectively, 43% of CAR-T treated patients (n=79) exhibited hemato-tox. Low hemoglobin and platelet counts at day -7 were the only clinical factors associated with hemato-tox occurrence. We observed CAR T infiltration in all BM examined; which correlated with hemato-tox severity. CXCR4 expression was detected on CAR-T cells in PBMC confirming their ability to reach the BM. BM secretome analysis showed an inflammatory cytokine profile in POST CART samples inversely related to platelet count. Interestingly, scRNAseq analysis revealed a drastic reduction of HSC following CAR T injection with an hematopoiesis biased at the expense of megakaryopoiesis. In parallel, we observed a significant expansion of mutated progenitors for CHIP associated genes (TET2, DNMT3A, ASXL1, PPM1D) following CAR T injection.

Conclusion: Our findings show that CAR T cells reside in the BM, and their infiltration correlates with hemato-tox severity suggesting a direct effect of CAR T cells on hematopoiesis through the secretion of multiple cytokines deleterious for the HSC compartment.