

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères) :

Vésicules extracellulaires comme biomarqueurs : intégration des signatures protéiques et microARN pour prédire la réponse à l'immunothérapie anticancéreuse

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : Garrido

Prénom : Carmen

Section CNU :

Grade : Phd

HDR : Date de soutenance...1997..... Discipline :

L'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : 7 boulevard gabriel, 21 000 Dijon

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) :CTM, UMR1231, Pr Ghiringhelli

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : Gobbo

Prénom : Jessica

Section CNU : 87

Grade : PhD

HDR : non ☐ ; oui ☐ Date de soutenance prévue le ...21/05/2026.....Discipline :

...Pharmacie...Sciences Biologiques.

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : 7 boulevard gabriel, 21 000 Dijon

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : CTM, UMR1231 ; Pr Ghiringhelli

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu)
- localisation
- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu
- adresse courriel du contact scientifique
- titre du projet
- description du projet (2 pages maximum)
- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)
- connaissances et compétences requises

Unité de recherche

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

Nom et label de l'unité : CTM, INSERM1231

Équipe : Équipe HSP-Pathies (Directrice de l'équipe : C Garrido, DRE)

Localisation : Dijon, France

Directrice de thèse : Carmen Garrido et Jessica Gobbo

Contact scientifique : Carmen.Garrido-Fleury@u-bourgogne.fr et jgobbo@cgfl.fr

Titre du projet : Vésicules extracellulaires comme biomarqueurs : intégration des signatures protéiques et microARN pour prédire la réponse à l'immunothérapie anticancéreuse

Description du projet

1. Contexte scientifique

L'immunothérapie par inhibiteurs de **points de contrôle immunitaire** (ICI), notamment ciblant l'axe PD-1/PD-L1, a révolutionné la prise en charge des patients atteints de cancers avancés tels que le **cancer du poumon non à petites cellules (CBNPC), le mélanome et le lymphome**. Toutefois, seuls 30 à 40 % des patients présentent une réponse clinique significative. Actuellement, la sélection des patients repose principalement sur l'analyse de l'expression tumorale de PD-L1 par immunohistochimie sur biopsie tumorale. A ce jour aucun biomarqueurs non invasifs, fiables n'existe pour prédire de la réponse à l'immunothérapie.

Ce projet de thèse s'inscrit au **cœur de cette problématique clinique majeure**, avec un objectif ambitieux : développer **une signature biologique innovante, non invasive et prédictive** de la réponse aux immunothérapies.

Dans ce contexte, les **vésicules extracellulaires (VE)** suscitent un intérêt croissant. Considérées comme des **nanoréservoirs** potentiels de **biomarqueurs tumoraux** (protéines, lipides, métabolites et acides nucléiques), elles ont la capacité de refléter à la fois l'**état** de la **tumeur** dans son ensemble et le **microenvironnement immunitaire**. Les VE présentent de nombreux avantages : (i) de par leur biogenèse, **elles reflètent l'état de la cellule d'origine** ; (ii) elles peuvent circuler dans tous les **fluides corporels** (sang, urine), représentent une source facilement accessible de biomarqueurs ; (iii) enfin, elles se trouvent en grandes quantités dans le sang (**10^{9-12} VE/mL de plasma**). En somme, les VE représentent des candidates idéales pour le développement de biomarqueurs non-invasifs. Notre équipe développe depuis plus de 10 ans un **programme de recherche translationnelle innovant**, basé sur l'étude de l'implication des VE circulantes dans le cancer. Pionniers en recherche translationnelle dans le domaine des VE, l'équipe a coordonné différents essais cliniques sur les VE en tant que biomarqueurs. Nos travaux antérieurs ont permis de démontrer la **faisabilité** d'isoler, quantifier et caractériser chez l'homme les VE dans le sang humain et mis en évidence l'intérêt de mesurer PD-L1 circulant dans les VE (**PD-L1-VE**) **comme biomarqueur dynamique** de la réponse aux anti-PD-1/PD-L1. Cependant ce marqueur ne prédit pas la réponse au traitement avant son initiation. Ces résultats soulignent la nécessité de développer **une signature multiparamétrique** intégrant plusieurs biomarqueurs complémentaires, afin d'identifier en amont les patients répondeurs et non-répondeurs. L'enjeu est désormais de construire une **signature multiparamétrique plus global** intégrant des caractéristiques du microenvironnement tumoral et immunitaire est indispensable.

2. Objectifs de la thèse :

Ce projet se poursuivra en deux objectifs distincts et complémentaires, visant à développer et à transférer vers la clinique une signature prédictive de réponse à l'immunothérapie basée sur les VE.

Objectif 1 : Identification d'une signature prédictive basée sur les vésicules extracellulaires.

Le/la doctorant(e) participera au développement d'une signature prédictive de réponse à l'immunothérapie chez les patients. Pour cela, les VE seront isolées et caractérisées à partir du plasma des patients, en utilisant des protocoles optimisés et standardisés au laboratoire. Les analyses combineront : (i) Le profil protéique multiplexé des VE, incluant des biomarqueurs immunitaires et tumoraux d'intérêt, (ii) le profilage global des microARN par RNA-seq, suivi d'une validation ciblée par RT-qPCR, (iii) l'intégration des données cliniques, biologiques et de suivi thérapeutique des patients, (iv) la modélisation par intelligence artificielle, incluant des approches de machine learning supervisé et non supervisé, afin d'identifier des signatures prédictives robustes et généralisables

Ce projet a pour vocation un transfert vers la clinique. Concernant le volet protéique, les technologies ELISA sont déjà adaptées à ce cadre translationnel. En revanche, pour les microARN issus des VE, aucune méthode standardisée, sensible et directement transposable en clinique n'est actuellement disponible.

En effet, l'analyse ciblée des mirARN dérivés des VE repose principalement sur la PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR), considérée comme la méthode de référence (« gold standard ») pour la détection ciblée des microARN. Cependant, cette approche présente plusieurs limitations majeures, notamment : l'absence de quantification absolue fiable, importante, un manque de standardisation des protocoles pour les microARN issus des VE, et une sensibilité limitée. Ces limitations constituant ainsi un obstacle majeur à leur utilisation en routine clinique. Ces verrous technologiques justifient le développement d'une nouvelle approche, constituant le second objectif du projet.

Objectif 2 : Développement d'une méthode innovante de détection quantitative et sensible des microARN

Le second objectif du projet vise à développer une méthode de détection multiplexée, sensible et quantitative des microARN dérivés des vésicules extracellulaires, compatible avec une utilisation clinique. Dans ce cadre, le/la doctorant(e) adaptera la plateforme N-PLEX (Meso Scale Discovery), une technologie permettant la détection multiplexée des microARN.

L'objectif sera de développer une approche : multiplexée, permettant la détection simultanée de plusieurs microARN, quantitative, avec une meilleure précision et reproductibilité, hautement sensible, permettant la détection de microARN de faible abondance, compatible avec un format clinique, et réalisable en une seule étape (« one-pot »), afin de simplifier le workflow et de réduire la variabilité technique.

À terme, cette technologie permettra la détection fiable et standardisée des signatures microARN dérivées des VE dans un contexte clinique.

3. Environnement technologique

Le projet repose sur des **technologies innovantes** automatisées maîtrisées et validées au laboratoire : (i) Plateforme ELISA ultrasensible automatisée (quantification rapide et robuste

à partir de faibles volumes), (ii)Western blot capillaire automatisé de nouvelle génération (standardisation complète et faible variabilité), (iii)Séquençage RNA-seq haut débit pour l'analyse des microARN, (iv)Plateforme N-PLEX (Meso Scale Discovery) pour la détection multiplexée des mirARN. Une collaboration étroite déjà en plac avec un laboratoire spécialisé en intelligence artificielle permettra au/à la doctorant(e) d'acquérir des compétences en analyse avancée de données biomédicales. Le projet s'appuiera sur une **dimension translationnelle forte** ; des cohortes rétrospectives de patients atteints de mélanome, CBNPC et du lymphome déjà disponible et un essai clinique multicentrique prospectif (n = 378 patients), financé et dont l'ouverture est prévue en mars 2026 (EV-predict : NCT07376512), permettant la validation externe de la signature identifiée dans les cohortes rétrospectives.

Les retombées attendues sont nombreuses : **meilleure stratification des patients**, adaptation des traitements en temps réel, **réduction des effets secondaires et optimisation de la prise en charge**. Ce projet propose une **approche complète et translationnelle**, combinant analyses protéiques, transcriptomiques et modélisation via IA, avec une perspective clinique concrète. Nous espérons qu'il contribuera à faire des VE un **outil clé** de la **médecine personnalisée en immuno-oncologie**, au **bénéfice direct** des patients et des systèmes de santé.

Financement du projet – partie Recherche

Financement acquis : Oui

- Type de financement :
 - 1.Marie-Curie Fellowship (Grant Européen)
 - 2.Ligue régionale contre le cancer
 3. PR-T2026 : dossier complet soumis (lettre d'intention validée), résultats attendus juillet 2026
- Financement couvrant : consommables, analyses moléculaires, séquençage, et développement technologique. Il permet également le recrutement d'un postdoctorant expert en miRNA et CRISPR-Cas9, renforçant la capacité de l'équipe à mener des recherches innovantes en oncologie moléculaire.

Connaissances et compétences requises

Formation

- Master 2 en biologie moléculaire, biologie cellulaire, cancérologie, ou domaine connexe
- Formation en biologie des acides nucléiques ou en biologie des EV appréciée

Compétences techniques souhaitées

- Biologie moléculaire (extraction ARN, PCR, qPCR, clonage, etc.)
- Culture cellulaire (souhaitée)
- Manipulation d'échantillons biologiques

- Notions de séquençage et d'analyse de données omiques (RNA-seq) appréciées

Compétences analytiques

- Intérêt pour la bioinformatique et l'analyse de données
- Connaissances de base en statistiques
- Une expérience en programmation (R, Python) serait un atout, mais pas obligatoire

Compétences générales

- Rigueur scientifique et esprit critique
- Autonomie et capacité d'organisation
- Motivation pour la recherche translationnelle en cancérologie
- Bon niveau d'anglais scientifique (lecture et rédaction)

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

L'immunothérapie a révolutionné le traitement des cancers avancés comme le mélanome ou le cancer du poumon non à petites cellules. Pourtant, seuls 30–40 % des patients répondent durablement. La sélection actuelle basée sur PD-L1 tumorale reste invasive et imparfaite. Il est urgent de disposer de **biomarqueurs fiables, non invasifs et prédictifs**.

Les vésicules extracellulaires (VE) circulantes sont de **véritables capsules d'information biologique**, reflétant l'état de la tumeur et de son microenvironnement immunitaire. Faciles d'accès par simple prise de sang, stables et présentes en grand nombre, elles contiennent **protéines et microARN** capables de prédire la réponse aux traitements. Notre équipe est pionnière dans l'étude des VE par biopsie liquide et a montré que le PD-L1-VE est un biomarqueur dynamique, mais il ne suffit pas à prédire la réponse avant traitement.

Ce projet de thèse propose de développer une **signature multiparamétrique intégrant protéines et microARN des VE**, données cliniques et biologiques, et modélisation par **intelligence artificielle**. En parallèle, le projet développera une **méthode innovante de détection multiplexée et ultrasensible des microARN basée sur la plateforme N-PLEX, optimisée pour une application clinique**. La signature identifiée sera validée dans des cohortes rétrospectives et un essai clinique prospectif multicentrique.

Ce projet de recherche translationnelle vise à améliorer la stratification des patients, optimiser les décisions thérapeutiques, et contribuer concrètement à la **médecine personnalisée en immuno-oncologie**.

Immunotherapy has revolutionized the treatment of advanced cancers such as melanoma and non-small cell lung cancer (NSCLC). Yet, only 30–40% of patients achieve durable responses. Current selection strategies based on tumor PD-L1 expression remain invasive and imperfect. There is an urgent need for reliable, non-invasive, and predictive biomarkers.

Circulating extracellular vesicles (EVs) are natural carriers of biological information, reflecting both the tumor and its immune microenvironment. Easily accessible through a simple blood draw, stable, and abundant, they carry proteins and microRNAs capable of predicting treatment responses. Our team is a pioneer in studying EVs via liquid biopsy and has

demonstrated that PD-L1 on EVs (PD-L1-EV) is a dynamic biomarker, although it alone cannot reliably predict response prior to therapy.

This thesis project aims to develop a multiparametric signature integrating extracellular vesicle (EV) proteins and microRNAs, clinical and biological data, and advanced modeling using artificial intelligence. In parallel, the project will develop an innovative, highly sensitive, multiplexed microRNA detection method based on the N-PLEX platform, optimized for clinical application. The identified signature will be validated in retrospective cohorts and a prospective multicenter clinical trial.

This translational research project is designed to improve patient stratification, optimize therapeutic decision-making, and provide a concrete contribution to personalized medicine in immuno-oncology.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous :

2 choix possibles maximum –les intitulés sont ceux d’ABG),

Ex : vous ne pouvez pas sélectionner uniquement informatique lorsqu’il est indiqué informatique, électronique :

- Santé, médecine humaine, vétérinaire

Indiquez quelques mots clés concernant votre sujet) :

Biopsie liquide, biomarqueur, vésicule extracellulaire, protéine, miRNA, intelligence artificielle