

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères) :

Investigating epidrug-mediated restoration of cGAS–IFN-I signaling to enhance immunogenic chemotherapy responses in triple-negative breast cancer across preclinical models and patient samples.

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

Directeur de thèse HDR :

Nom : Limagne

Prénom : Emeric

Section CNU :

Grade : PU UBE

HDR : Date de soutenance : 24/03/2026. Discipline : biologie cellulaire, oncologie, immunologie

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

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : 1 rue du Professeur Marion, Centre Georges-François Leclerc, Plateforme de Transfert en Biologie du Cancer (PTBC), Equipe TIRECS.

Emeric.Limagne@u-bourgogne.fr 06.73.61.28.99

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) :

CTM U1231, Equipe TIRECS , Dir F. Ghiringhelli

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

Laboratoire : CTM INSERM 1231 – Univ. Bourgogne Europe – Centre G-F Leclerc

Equipe TIRECS - Groupe OASIS : « *Oncogenic Addiction and Sensitivity to Immunotherapy Strategies* »

Localisation : CGFL (Plateforme de Transfert en Biologie du Cancer)

Directeur de thèse : Emeric Limagne (Emeric.Limagne@u-bourgogne.fr, elimagne@cgfl.fr)

Titre du projet : Investigating epidrug-mediated restoration of cGAS–IFN-I signaling to enhance immunogenic chemotherapy responses in triple-negative breast cancer across preclinical models and patient samples.

Contexte et enjeux du projet : La chimio-immunothérapie, qui associe une chimiothérapie conventionnelle à un anticorps anti-PD-1, s'est imposée comme une approche thérapeutique majeure et a été approuvée en première ligne dans plusieurs cancers. Depuis le début des années 2020, cette stratégie a été testée dans le **cancer du sein triple négatif (CSTN)**, un sous-type particulièrement agressif et de pronostic défavorable. En 2022, l'essai clinique KEYNOTE-355 a évalué, dans le CSTN métastatique, l'association pembrolizumab (anti-PD-1) + chimiothérapie (taxane ou gemcitabine/ carboplatine) comparée à une chimiothérapie seule. Les résultats ont

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.

montré une amélioration significative de la survie globale dans le bras chimio-immunothérapie, mais uniquement chez les patientes dont les tumeurs présentaient une forte expression de PD-L1 (Cortes *et al.*, *NEJM*, 2022). Cette étude a ainsi établi la chimio-immunothérapie comme nouveau standard de soins dans les CSTNm PD-L1 positifs, tandis que les options thérapeutiques pour les tumeurs PD-L1 négatives restent limitées et reposent exclusivement sur la chimiothérapie. L'expression de PD-L1 reflète en grande partie l'intensité de la réponse immunitaire : un faible score PD-L1 traduit d'une immunogénicité réduite des cellules tumorales et/ou d'une infiltration limitée en **lymphocytes T ou NK cytotoxiques**.

L'immunogénicité d'une tumeur et sa capacité à recruter des lymphocytes antitumoraux reposent en grande partie sur la production **d'interférons de type I (IFN- α/β)** et de **chimiokines telles que CXCL9 et CXCL10**, ligands du récepteur CXCR3 exprimé par les lymphocytes T et NK activés. Les marqueurs CXCL10 et MX1, témoins de l'activation de la voie des interférons de type I, sont d'ailleurs fortement corrélés à l'expression intratumorale de PD-L1, et l'expression de CXCL10 a été identifiée comme un facteur prédictif positif de réponse à l'immunothérapie dans le CSTN (Hammerl D *et al.*, *Nat Com*, 2021). Dans cette logique, renforcer les signaux inflammatoires et chimiotactiques produits par les cellules tumorales, en particulier IFN- α/β et CXCL9/10, apparaît comme une stratégie pertinente pour sensibiliser les tumeurs PD-L1 négatives à l'immunothérapie. C'est précisément sur ce rationnel que repose la chimio-immunothérapie : au-delà de leur effet cytotoxique, certaines chimiothérapies peuvent induire une mort cellulaire inflammatoire caractérisée par la sécrétion d'IFN- α/β et de CXCL9/10, favorisant ainsi l'activation d'une réponse immunitaire ensuite amplifiée ou prolongée par l'immunothérapie. Toutefois, les résultats cliniques évoqués plus haut suggèrent que les chimiothérapies ne parviennent pas toujours à induire cette mort inflammatoire ni à rendre les tumeurs plus sensibles à l'immunothérapie. De nombreuses pistes sont aujourd'hui explorées pour comprendre et contourner ces mécanismes de résistance à la chimio-immunothérapie. **Notre groupe étudie depuis plusieurs années les mécanismes moléculaires par lesquels les cellules tumorales parviennent à neutraliser les signaux immunogènes déclenchés par la chimiothérapie.** Nous avons notamment montré que les sels de platine induisent, en parallèle de la mort immunogène, des signaux tolérogènes qui en atténuent l'efficacité et favorisent la résistance des CSTN à la chimio- immunothérapie (Kalfeist L *et al.*, *J Clin Invest*, 2025). Nous avons également mis en évidence que certaines voies oncogéniques, en particulier l'axe KRAS/MEK, peuvent inhiber la sécrétion de CXCL10 en réponse à la chimiothérapie, privant ainsi le système immunitaire d'un signal essentiel au recrutement des lymphocytes T et NK (Limagne E *et al.*, *Cancer Cell*, 2022). Ces travaux soulignent la capacité des cellules tumorales à activer de véritables programmes d'échappement immunitaire, limitant l'immunogénicité de la chimiothérapie et contribuant à l'inefficacité de la CI.

Données préliminaires et projet de thèse : Dans le cadre du projet ChemoKin, financé par l'ANR JC, nous avons cherché à identifier des thérapies ciblées capables d'amplifier l'expression de CXCL10 induite par la chimiothérapie dans les cellules tumorales. Pour cela, nous avons criblé 400 thérapies ciblées en combinaison avec le carboplatine, une chimiothérapie couramment associée aux anti-PD-1 dans le CSTN, en utilisant le modèle préclinique 4T1, immunologiquement très proche des CSTN humains PD-L1 négatifs. Cette approche visait à repérer des agents capables de renforcer la réponse inflammatoire induite par la chimiothérapie et, potentiellement, de surmonter la résistance des tumeurs PD-L1 négatives à la CI.

Le criblage a mis en évidence une famille de composés particulièrement intéressante : les inhibiteurs pan-HDAC (Histone Désacétylases, « Epi-drugs »), dont le quisinostat, qui se sont révélés capables de potentialiser fortement l'effet du carboplatine sur la sécrétion de CXCL9 et CXCL10. Par la suite, nous avons pu évaluer plus en détail les effets moléculaire et thérapeutique de l'association quisinostat/carboplatine (Q/CB) $\pm$ anti-PD1. De manière très intéressante, nous avons constaté un changement profond du transcriptome des cellules tumorales, synergiquement modifié par l'association Q/CB par rapport aux molécules seules, indiquant une activation puissante de la voie

des IFN- α/β importante pour induire l'expression de CXCL9 et CXCL10 de manière autocrine. Un criblage d'inhibiteur pharmacologique nous a permis d'identifier cGAS, comme le PRRs (*Pathogen Recognition Receptor*) essentiel à l'activation des IFN- α/β par notre combinaison. De plus, nous avons constaté que l'ADN mitochondrial (ADNmt), un ligand naturel de cGAS, est essentiel à l'activation des IFN- α/β . La capacité des inhibiteurs d'HDAC à modifier la structure de la chromatine et de restaurer/amplifier l'activation de cGAS par le carboplatine est très intéressante d'un point de vue moléculaire. En effet ; les données de la littérature montrent que cGAS est inactivé par son interaction avec le patch acide des nucléosomes (Pathare G *et al. Nature*, 2020). Il est donc tout à fait possible que l'ouverture de la chromatine, par les HDACi, permette à cGAS d'être plus facilement activable par les ADN double brin. L'effet des HDACi ne sera donc par purement lié à leur capacité à induire l'expression génique des IFN- α/β ou de CXCL10 mais bien à restaurer le potentiel d'activation de cGAS. *In vivo*, nous avons pu constater une augmentation significative des signaux inflammatoires et de l'infiltration lymphocytaire dans les tumeurs 4T1 après traitement par Q/CB comparativement à Q ou CB seul. Cet effet s'accompagne d'une meilleure efficacité thérapeutique et une plus faible progression métastatique, dépendantes des T-CD8+ et de l'axe de recrutement lié à CXCR3. Le présent projet de thèse s'inscrit dans la continuité de ce travail et s'articulera autour de 5 grandes questions :

- Quel est le **mécanisme moléculaire** associé à l'amplification des IFN- α/β et de CXCL9/10 induite par le carboplatine ? Est-ce que cet effet peut s'étendre à d'autres chimiothérapies ?
- Quel est le **lien entre régulation épigénétique, activation de cGAS et ADNmt** ?
- Quelles sont les **impacts de cette association sur la réponse immunitaire antitumorale *in vivo*** ?
- Quels sont les **impacts de cette association sur la réponse à l'immunothérapie anti-PD1** (modèle 4T1 et autres modèles précliniques de CSTN) ?
- Est-ce que notre **mécanisme moléculaire est transposable et associé à la réponse des CSTN humains** traités par chimio-immunothérapie (travail mené avec Pr. S. Ladoire) ?

- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat).

Le projet est financé par :

- L'Agence Nationale de la Recherche projet ChemoKin (ANR-22-CE17-0008) (365 kE)
- L'Agence Nationale de la Recherche dans le cadre de la CPJ UBE (Pr. Limagne) (80kE)
- Projet Odyssey / CGFL « stratégie de sensibilisation des CSTN à la chimio-immunothérapie » (45 kE)

- Connaissances et compétences requises

Le/la futur(e) doctorant(e) devra disposer de bases solides en biologie cellulaire et moléculaire, ainsi que d'un intérêt affirmé pour l'immunologie et la cancérologie, notamment les mécanismes d'immunité antitumorale et de résistance aux immunothérapies. Une maîtrise des techniques expérimentales essentielles est attendue en biologie cellulaire, biochimie et biologie moléculaire (culture cellulaire, western blot, RT-qPCR, transfection/CRISPR-Cas9), ainsi qu'en immuno-analyses (cytométrie en flux, ELISA, immunomarquage). Une motivation et une première expérience de travail sur des modèles précliniques murins de cancers seront importantes (habilitation à l'expérimentation animale nécessaire). Le/la candidat(e) devra faire preuve de rigueur, d'esprit critique, d'autonomie, de compétences analytiques et d'une bonne capacité à s'intégrer dans une équipe pluridisciplinaire. Un Master 2 ou équivalent en biologie, biotechnologies, immunologie ou cancérologie, avec une première expérience réussie en laboratoire, constitue le profil recherché.

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

Résumé en français :

La chimio-immunothérapie, combinant chimiothérapie et anticorps anti-PD-1, améliore la survie des patientes atteintes de cancer du sein triple négatif (CSTN) métastatique, mais uniquement lorsque

les tumeurs expriment fortement PD-L1. Les CSTN PD-L1 négatifs restent quant à eux réfractaires, en raison d'une faible immunogénicité et d'une incapacité à produire les signaux inflammatoires nécessaires au recrutement des lymphocytes T, notamment les interférons de type I et les chimiokines CXCL9/10. Notre équipe a montré que certaines chimiothérapies induisent des signaux tolérogènes ou que des voies oncogéniques comme KRAS/MEK inhibent la sécrétion de CXCL10, limitant ainsi l'efficacité de la chimio-immunothérapie.

Dans le présent projet, un criblage de 400 thérapies ciblées combinées au carboplatine a permis d'identifier les inhibiteurs pan-HDAC, dont le quisinostat, comme de puissants amplificateurs de la sécrétion de CXCL9/10. L'association quisinostat/carboplatine active fortement la voie IFN-I via le capteur cGAS, dépendant de l'ADN mitochondrial, probablement grâce à une ouverture de la chromatine facilitant son activation. In vivo, cette combinaison augmente l'inflammation intratumorale, l'infiltration lymphocytaire et l'efficacité thérapeutique, tout en limitant la progression métastatique.

La thèse visera à élucider les mécanismes moléculaires reliant épigénétique, activation de cGAS et immunogénicité tumorale, à évaluer l'impact de cette stratégie sur la réponse immunitaire et l'efficacité des anti-PD-1 dans plusieurs modèles précliniques, et à déterminer sa pertinence dans des échantillons de patientes atteintes de CSTN traitées par chimio-immunothérapie.

Résumé en anglais :

Chemo-immunotherapy, which combines conventional chemotherapy with anti-PD-1 antibodies, improves survival in patients with metastatic triple-negative breast cancer (TNBC), but only when tumors strongly express PD-L1. PD-L1-negative TNBCs remain refractory due to low immunogenicity and an inability to produce the inflammatory signals required for T-cell recruitment, particularly type I interferons and the chemokines CXCL9/10. Our team has shown that some chemotherapies induce tolerogenic signals, and that oncogenic pathways such as KRAS/MEK can inhibit CXCL10 secretion, thereby limiting the efficacy of chemo-immunotherapy.

In this project, a screen of 400 targeted therapies combined with carboplatin identified pan-HDAC inhibitors, including quisinostat, as potent amplifiers of CXCL9/10 secretion. The quisinostat/carboplatin combination strongly activates the type I IFN pathway through the cGAS sensor, in a mitochondrial DNA-dependent manner, likely facilitated by chromatin opening that enhances cGAS activation. In vivo, this combination increases intratumoral inflammation, lymphocyte infiltration, and therapeutic efficacy, while limiting metastatic progression.

The PhD project will aim to elucidate the molecular mechanisms linking epigenetic regulation, cGAS activation, and tumor immunogenicity; to evaluate the impact of this strategy on antitumor immune responses and anti-PD-1 efficacy across several preclinical models; and to determine its relevance in samples from TNBC patients treated with chemo-immunotherapy.

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 :

- **Biologie**
- **Santé, médecine humaine, vétérinaire**

Indiquez quelques mots clés concernant votre sujet) :

Cancer du sein triple négatif, chimio-immunothérapie, cGAS/STING, interférons de type 1, épigénétique

