

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères) : Modulation de la synapse immunologique pour optimiser l'efficacité des cellules CAR-T dans les tumeurs solides ?

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

Directeur de thèse HDR :

Nom : GODET

Prénom : Yann

Section CNU : 82

Grade : PU-PH

HDR : Date de soutenance : 14/02/2017

Discipline : Immunologie

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

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

8, rue du Docteur Girod - BP1937

25020 Besançon Cedex

yann.godet@umlp.fr

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

UMR Right, INSERM U1098, EFS, UFC

Directeur : Pr Olivier ADOTEVI

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)

UMR1098 RIGHT (INSERM, EFS, UMLP) – Equipe TICI

- Localisation

8, rue du Docteur Girod - BP1937

25020 Besançon Cedex

- Nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu

Pr Yann GODET

- Adresse courriel du contact scientifique

yann.godet@umlp.fr

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.

- Titre du projet

Modulation de la synapse immunologique pour optimiser l'efficacité des cellules CAR-T dans les tumeurs solides

- Description du projet (2 pages maximum)

Rationnel du projet :

Les cellules CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T cells) sont des lymphocytes T génétiquement modifiés pour exprimer un récepteur artificiel capable de reconnaître spécifiquement un antigène tumoral à la surface des cellules cancéreuses. Cette ingénierie permet de rediriger et d'amplifier la réponse cytotoxique des lymphocytes T contre la tumeur, constituant ainsi une forme innovante d'immunothérapie adoptive des cancers. Malgré le formidable succès pour le traitement des hémopathies B, l'utilisation des CAR-T pour le traitement des tumeurs solides s'est révélé être un échec lors des essais cliniques. Ceci serait due à de multiples facteurs. Parmi les plus importants :

(i) Les cellules CAR-T perfusées présentent des capacités limitées à éliminer les cellules tumorales résistantes exprimant de faibles niveaux d'antigènes, ce qui peut s'expliquer par une signalisation sous-optimale délivrée par le CAR (Mühlgrabner et al., 2024) et par l'incapacité des cellules CAR-T à établir des synapses immunologiques fonctionnelles avec les cellules cibles (Davenport et al., 2018; Gudipati et al., 2020). L'avidité des cellules CAR-T pour les cellules cibles lors de l'assemblage des SI est un paramètre clé, dont la corrélation avec l'éradication tumorale in vivo a été démontrée. L'augmentation de cette avidité améliore l'élimination tumorale dans des modèles murins de leucémie aiguë myéloïde (Lee et al., 20023). Par conséquent, les tumeurs solides semblent échapper au contrôle des cellules CAR-T in vivo en dessous d'un certain seuil d'expression des molécules d'adhérence, notamment LFA-1 (Larson et al., 2022). Ces études mettent en évidence l'importance cruciale des propriétés de liaison et, potentiellement, de la mécanotransduction lors de la reconnaissance de l'antigène tumoral par le CAR au niveau des SI. On ignore encore comment ces paramètres se traduisent précisément en profils d'activation des lymphocytes T et en régulation fonctionnelle des cellules CAR-T.

Le récepteur de chimiokine CX3CR1 est exprimé sur les cellules immunitaires, notamment les cellules dendritiques, les monocytes, les macrophages, les cellules NK et les lymphocytes T (Imai et al., 1997). Son expression est corrélée au degré de différenciation des lymphocytes T CD8+ effecteurs, et les lymphocytes T CD8+ CX3CR1+ présentent une forte cytotoxicité lors des réponses immunitaires antitumorales (Böttcher et al., 2015; Gerlach et al., 2016; Zwijnenburg et al., 2023). En effet, les lymphocytes T CD8+ CX3CR1+ expriment des niveaux élevés de molécules cytolytiques et présentent une forte cytotoxicité in vitro (Gerlach et al., 2016; Yamauchi et al., 2021a, 2020, 2022a). Ainsi, nous avons mené des expériences pour étudier si l'activation de CX3CR1 sur les lymphocytes T CD8+ pouvait contribuer à l'immunité antitumorale en renforçant la formation des synapses immunologiques et l'activité cytotoxique. Des analyses fonctionnelles ont révélé que l'activation de l'axe CX3CL1–CX3CR1 renforce la signalisation du TCR et la fonction cytotoxique, notamment en favorisant l'activation de LFA-1 et l'exocytose des granules lytiques au niveau de la synapse immunologique des lymphocytes T (Chartral et al., under review). Dans le contexte des cellules CAR-T, nous suggérons que CX3CR1 pourrait réorganiser la synapse immunologique

des cellules CAR-T notamment en activant LFA-1 renforçant leur fonction cytotoxique contre les cellules tumorales.

(ii) Un autre mécanisme clé expliquant l'incapacité des cellules CAR-T à contrôler les tumeurs solides est leur dysfonctionnement progressif dû à une exposition chronique aux antigènes (CAE) (Good et al., 2021). Ce mécanisme est associé à l'acquisition d'un phénotype de type NK-like, caractérisé par l'expression de récepteurs inhibiteurs (KIR, NKG2a) et une diminution de l'expression de CX3CR1. Il est important de noter que le taux de cellules CAR-T de type NK-like est corrélé à l'évolution tumorale progressive et à l'échec de la réponse chez les patients atteints de lymphome à cellules B et de cancer du pancréas (Good et al., 2021; Schuster et al., 2017).

Notre équipe a démontré précédemment que la signalisation de CX3CR1 orchestre l'organisation des synapses immunologiques lors des interactions entre cellules NK et cellules dendritiques, via l'accumulation de radeaux lipidiques induisant l'activation des cellules NK (Pallandre et al., 2008). De plus, dans ces expériences, lorsque CX3CR1 se liait à sa chimiokine membranaire CX3CL1, les récepteurs KIR étaient exclus de la synapse immunologique des cellules NK grâce à la réorganisation du cytosquelette et des radeaux lipidiques favorisant ainsi l'activation cellulaire. Dans le contexte des cellules CAR-T, nous suggérons que CX3CR1 pourrait contrecarrer les effets négatifs des récepteurs inhibiteurs induits par l'exposition chronique à l'antigène favorisant ainsi leur efficacité et leur maintien à long terme.

Expertise :

Notre équipe s'intéresse particulièrement à l'optimisation de la fonction des cellules CAR-T notamment via des approches d'optimisation. En effet, grâce des techniques de Knock-Out (KO) de gènes, nous avons pu démontrer que l'extinction de l'expression de AHR dans les cellules CAR-T augmentait leur efficacité anti-tumorale via leur potentialisation de leurs voies métaboliques (De Castro et al., 2025). De plus, une étudiante en thèse travaille actuellement sur l'invalidation de points de contrôles immunitaires intracellulaires par des techniques de KO dans les CAR-T cells.

Originalité du projet et hypothèse de travail :

Alors que les cellules CAR-T modifiées par des récepteurs de chimiokines sont principalement étudiées pour améliorer leur migration tumorale, le rôle potentiel de l'interaction avec CX3CR1 au niveau de la synapse immunologique dans le maintien de leur fonctionnalité reste inexploré. Ainsi, en s'appuyant sur notre expertise, ce projet aborde de manière originale cette fonction non canonique de CX3CR1 dans le remodelage et la signalisation de la synapse immunologique. L'hypothèse de travail est que la surexpression de CX3CR1 pourrait stimuler la fonction des cellules CAR-T dans le contexte des tumeurs solides en modulant la force et la qualité de la synapse immunologique avec les cellules cibles tumorales. Une telle modulation pourrait affecter l'activité cytotoxique intrinsèque des cellules CAR-T, leur viabilité, ainsi que leur capacité à résister aux dysfonctionnements liés à l'activation des cellules CAR-T (CAE). A terme, ce projet pourrait permettre d'ouvrir la voie à de nouvelles approches d'optimisation des thérapies cellulaires existantes pour le traitement des tumeurs solides.

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

La partie fonctionnement du projet sera financé par les dotations récurrentes de l'unité de recherche et par une partie du projet FEDER Biolmp (200 k€) jusqu'à fin 2028. En parallèle,

des demandes de financements ont déjà été effectuées notamment auprès de la ligue contre le cancer (600 k€) et de l'INCA (600 k€, lettre d'intention acceptée).

- Connaissances et compétences requises

Bonnes connaissances de l'immuno-oncologie, notamment de la biologie des lymphocytes T et des cancers solides. Compétences rédactionnelles et de présentation de données scientifiques requises. Expériences de stage en laboratoire de recherche en immunologie requise.

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

Les thérapies à base de cellules CAR-T restent inefficaces dans les tumeurs solides. Ceci est partiellement lié à : 1) l'assemblage incomplet de la synapse immunologique (SI), 2) une signalisation sous-optimale, 3) un dysfonctionnement dû à l'exposition chronique à l'antigène caractérisée par l'expression de récepteurs inhibiteurs de type NK. Nous avons établi que l'axe CX3CR1/CX3CL1 réorganisait la SI des cellules NK en excluant les KIRs pour favoriser leur activation. L'objectif est d'étudier l'impact de l'axe CX3CR1/CX3CL1 sur l'organisation de la SI et l'activation des CAR-T dysfonctionnelles dans le but de restaurer leur efficacité antitumorale. Nous déterminerons : 1) si l'axe CX3CR1/CX3CL1 potentialise l'avidité et les fonctions des CAR-T, 2) comment la signalisation CX3CR1 conduit à l'activation et à la persistance des CAR-T 3) si CX3CR1 peut prévenir le phénotype NK-like des CAR-T dysfonctionnelles par l'exclusion des récepteurs inhibiteurs de la SI. Enfin, l'efficacité des CAR-T optimisées par CX3CR1 sera évaluée dans des modèles in vivo. Au-delà de son rôle chimiotactique bien décrit, CX3CR1 pourrait potentialiser l'efficacité des CAR-T en agissant positivement sur certains verrous majeurs : 1) potentialiser l'assemblage de la SI en évitant les mécanismes d'échappement à l'avidité cellulaire, 2) favoriser la persistance in vivo, 3) prévenir l'acquisition d'un phénotype dysfonctionnel. Ce projet ouvrirait la voie à l'optimisation des CAR-T basées sur les récepteurs de chimiokines dans les tumeurs solides.

CAR-T cell approach remains ineffective in solid tumors. This is partially related to: 1) the incomplete assembly of immunological synapses (IS), 2) the suboptimal CAR signaling delivered, 3) the dysfunction of CAR-T cells due to chronic antigen exposure characterized by inhibitory receptor expression. We have established that the CX3CR1/CX3CL1 axis excludes KIRs from the IS of NK cells, allowing optimal activation. The possibility that CX3CR1 may promote CAR-T cell activation via IS remodeling remains to be investigated. The objective is to study the impact of the CX3CL1/CX3CR1 axis on IS organization and activation of CAR-T cells with the perspective to ameliorate CAR-T cell efficacy against solid tumors. Three specific aims will be investigated: 1) we will determine whether the CX3CR1/CX3CL1 axis potentiates CAR-T cell avidity and cytotoxic function, 2) we will evaluate how CX3CR1 signaling leads to CAR-T cell activation and persistence, 3) we will determine if CX3CR1 can prevent the NK-like phenotype of dysfunctional CAR-T cells by the exclusion of inhibitory receptors from the IS. Finally, the efficacy of CX3CR1-optimized CAR-T cells will be evaluated in vivo. In addition to its well-described chemotactic role, CX3CR1 may augment CAR-T cell functional fitness via additional mechanisms: 1) promoting complete assembly of the IS to avoid cell avidity escape mechanisms, 2) favoring in vivo persistence, 3) preventing the acquisition of a dysfunctional phenotype. Our project will demonstrate the ability of CX3CR1 to modulate the CAR-T cell IS, paving the way for chemokine receptor-based CAR-T cells optimization in solid tumors.

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) :

Lymphocytes T, synapse immunologique, tumeurs solides, thérapie cellulaire, CAR-T