

Résumés scientifiques des projets retenus dans le cadre du **Programme d'actions** intégrées de recherche – Tumeurs cérébrales

Sept projets ont été retenus et seront cofinancés par l'Institut national du cancer, la Ligue contre le cancer et la Fondation ARC à hauteur de 5,137 M€, sur une durée de 36 ou 48 mois.

1. Medhi TOUAT : « **Vaincre l'immunoséistance des gliomes malins** »

INSERM U1127, ICM, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, APHP, Sorbonne Université, Paris

Contexte

Malgré les progrès de l'immunothérapie, les gliomes malins (HGG) demeurent résistants au blocage des points de contrôle immunitaires (ICB), notamment en raison d'un microenvironnement immunitaire (iTME) fortement immunosuppresseur. Nos données préliminaires suggèrent que les phénotypes et l'organisation spatiale des cellules tumorales et de l'iTME sous-tendent les mécanismes de résistance à l'immunothérapie dans les HGGs.

Objectifs

Aim1.1 testera l'hypothèse selon laquelle des interactions tumeur-iTME spécifiques induisent une immunosuppression dans les différents types de gliomes. Ceci sera testé grâce à des approches scRNA-seq (déconvolution, interactions ligand-récepteur) et de validation fonctionnelle (édition génétique, inhibition pharmacologique) dans des modèles de co-cultures organoïdes/cellules immunitaires de patients traités par ICB. *Aim1.2* testera l'hypothèse selon laquelle l'organisation spatiale de l'iTME influence la réponse à l'immunothérapie. Ceci sera testé par une analyse des relations spatiales tumeur-iTME par imagerie multiplexée et machine learning dans des cohortes d'intérêt (HGGs longs/courts survivants, rares répondeurs aux ICB), et par modulation de cibles paracrines identifiées dans *Aim1.1* combinée aux ICB dans des modèles d'HGG immunocompétents. *Aim2* cherchera les corrélations entre phénotypes tumeur-iTME, organisation spatiale, et survie et réponse aux ICB par l'exploitation des données générées à partir d'échantillons étudiés dans *Aim1* et de bases de données publiques. *Aim3* explorera des modèles philosophiques définissant l'iTME et sa plasticité pour améliorer la représentation de la maladie et la compréhension de l'immunothérapie.

Résultats attendus

Ce projet déterminera comment les différences dans les phénotypes et l'organisation spatiale de l'iTME des HGGs contribuent à l'immunoséistance, et pourrait ainsi déboucher sur de nouveaux essais visant à réduire l'immunoséistance des HGG et améliorer l'efficacité de l'immunothérapie.

2. Michel KALAMARIDES : « Explorer le rôle et manipuler le micro-environnement tumoral dans les méningiomes agressifs »

Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris

Les méningiomes sont les tumeurs primitives du système nerveux central les plus fréquentes chez l'adulte. Les formes de haut grade ont une fréquence élevée de mutations *NF2* et représentent 25 % des méningiomes avec des récives multiples, associées à une morbidité et une survie réduite sans options médicamenteuses, immunothérapie comprise.

Les méninges jouent un rôle clé dans la communication neuro-immunitaire par la diversité de leurs cellules immunes et la présence de vaisseaux lymphatiques (VLM). Des données récentes, notamment de notre équipe, montrent une infiltration fréquente de lymphocytes et cellules myéloïdes propre aux méningiomes bénins. Notre hypothèse est que le microenvironnement immunitaire constitué par les cellules immunes méningées et les VLM régule la progression histologique maligne des méningiomes *NF2*-mutés et leur comportement d'échappement à la surveillance immunitaire.

Nos principaux objectifs sont: (i) de caractériser les phénotypes cellulaires et leurs interactions dans le microenvironnement tissulaire, en particulier la contribution des lymphatiques méningés et des cellules immunitaires dans la progression des méningiomes humains; (ii) d'utiliser nos modèles de souris de méningiomes de différents grades pour déterminer si les VLM régulent la malignité des méningiomes, en induisant une perte ou un gain des VML chez ces animaux; (iii) d'évaluer la participation des populations de cellules immunitaires dans l'initiation et la progression en induisant une perte de populations immunitaires spécifiques dans nos modèles souris de méningiome. Ces trois approches complémentaires vont conférer robustesse et originalité à notre étude.

Notre projet va permettre de caractériser précisément le rôle du microenvironnement immunitaire dans la malignité des méningiomes-*NF2* et de manipuler ses composantes lymphatiques et immunitaires dans les méninges, pour ultérieurement potentialiser les approches thérapeutiques associées à l'immunothérapie.

3. Raphaël SERDUC : « Innovations en radiothérapie pour lutter contre le glioblastome : transfert de la radiothérapie par microfaisceaux en clinique »

INSERM EA7442, Grenoble

Après plus de deux décennies de recherche en génies informatique et mécanique, dosimétrie, physique, biologie, médecine et plusieurs dizaines d'études précliniques, le transfert clinique de la thérapie par rayonnement synchrotron par microfaisceaux (MRT) est désormais réaliste, faisable et attendu avant 2025 pour les patients atteints de glioblastome. En début d'année, l'hôpital de Grenoble (CHUGA) a réuni une «force locale» et a récemment lancé les procédures afin de procéder au premier essai clinique humain pour le traitement du glioblastome. L'objectif de ce projet est d'assurer le transfert clinique de la MRT en finalisant les derniers liens entre les essais précliniques et les applications cliniques. La radiothérapie reste le traitement le plus efficace pour les tumeurs cérébrales de haut grade. Les échecs radiothérapeutiques sont principalement corrélés à la radiosensibilité des tissus sains avoisinant la lésion, ce qui limite la dose de rayonnement pouvant être délivrée. Des travaux récents ont considérablement questionné la compréhension de la réponse des tissus sains à la MRT, car une augmentation marquée de la tolérance des tissus normaux à l'irradiation par microfaisceaux a été observée. La MRT est une approche radicalement nouvelle de radiochirurgie où les rayons X générés par une source de lumière synchrotron, sont collimatés en un ensemble de microfaisceaux parallèles de quelques dizaines de microns de large et séparés de quelques centaines de microns. Cette particularité autorise un dépôt de dose très élevée (des centaines de Gy) dans les

trajets des microfaisceaux (dose pic) tandis que les tranches de tissu situées entre les microfaisceaux ne reçoivent que 5 à 10% de la dose maximale (dose vallée). Cette géométrie d'irradiation unique réduit considérablement les effets secondaires induits par le rayonnement dans les tissus sains avoisinant la lésion, tout en délivrant des doses très élevées dans les cibles. Il a été prouvé que la MRT réduisait considérablement les effets secondaires induits par les radiations par rapport à la radiothérapie conventionnelle pour un contrôle tumoral similaire chez les rongeurs. Nous avons également confirmé chez les grands animaux (porcs) à long terme après l'irradiation, que les expositions aux microfaisceaux étaient tolérées par les tissus cérébraux normaux et nous sommes maintenant prêts à terminer les dernières étapes avant l'essai clinique.

Dans ce projet, nous montrerons que la géométrie optimisée d'irradiation microfaisceaux i- peut traiter les tumeurs cérébrales chez les rongeurs avec des facteurs d'équivalence de dose inattendus par rapport aux expositions conventionnelles, ii- la MRT est une alternative sûre et efficace pour la gestion des tumeurs spontanées chez les patients vétérinaires (chiens) iii- la MRT peut répondre aux exigences réglementaires en physique médicale et peut être transférable à l'environnement clinique iv-, la MRT est une modalité pertinente et prometteuse pour le traitement du glioblastome chez les patients humains. Parallèlement à la finalisation du système de dosimétrie et de planification du traitement (TPS), la radiobiologie établira les doses biologiques équivalentes pour la MRT et la radiothérapie conventionnelle chez les rongeurs et les animaux de compagnie. En effet, nous supposons que les tissus normaux exposés à cette nouvelle technique présenteront des réponses biologiques / radiotolérances uniques qui autoriseront une escalade de dose pour le contrôle des tumeurs cérébrales chez les animaux de compagnie. Nous démontrerons que la MRT augmente significativement la survie dans des conditions de traitement proches de celles qui seront utilisées pour l'homme (logistique et réglementation mais aussi, dosimétrie, utilisation de machines hospitalières + MRT, etc.).

Au terme de ce projet, nous pourrions proposer, sur la base d'évidences physiologiques, comportementales, tissulaires et cellulaires, un protocole de MRT optimisé, sécurisé, efficace et transférable pour le traitement des tumeurs cérébrales chez l'homme.

4. Julie DÉCHANET-MERVILLE : « Utilisation des lymphocytes T gamma-delta dans le traitement du glioblastome »

CNRS UMR5164, Bordeaux

Le glioblastome (GBM) est la tumeur cérébrale la plus fréquente chez l'adulte. Il est caractérisé par une agressivité majeure associée à une médiane de survie inférieure à 21 mois, malgré les traitements actuels (protocole de Stupp). Plusieurs immunothérapies innovantes dirigées contre le GBM sont actuellement en développement, dont le transfert adoptif de lymphocytes T $\alpha\beta$ ou CAR T. Elles sont néanmoins limitées par un microenvironnement hautement immunosuppresseur et un échappement tumoral fréquent, et leur amélioration ainsi que le développement de nouveaux traitements sont critiques. Les lymphocytes T $\gamma\delta$ (LT $\gamma\delta$) ont récemment émergé comme acteurs clefs de la surveillance immunitaire anti tumorale, mais dans le cadre du GBM, leur présence, abondance et fonctions au sein du microenvironnement sont encore mal définies, ainsi que leur potentiel d'utilisation comme thérapie cellulaire.

Ce projet s'appuie sur notre expertise de la réponse anti-cancéreuse des lymphocytes T $\gamma\delta$, et notre maîtrise de protocoles permettant leur expansion préclinique à large échelle. Il a pour premier objectif de caractériser le compartiment $\gamma\delta$ infiltrant les GBM, en termes d'abondance, de phénotype et de fonctions, par une combinaison d'approches d'imagerie, de cytométrie en flux multiparamétrique, et

de séquençage ARN single-cell. Dans un second temps, la preuve de concept préclinique de leur utilisation comme thérapie cellulaire sera apportée par la caractérisation de leurs propriétés anti tumorales, *in vitro*, puis *in vivo* dans des modèles murins de xénotransgreffe. Enfin, les mécanismes moléculaires, notamment les récepteurs de $LT\gamma\delta$ et les antigènes tumoraux, impliqués dans la reconnaissance du GBM par les $LT\gamma\delta$, seront caractérisés.

Cette étude apportera des informations fondamentales sur le compartiment $LT\gamma\delta$ infiltrant les GBM, ainsi que des stratégies permettant leur exploitation directement *in vivo* ou par transfert adoptif, afin d'améliorer la prise en charge des patients.

5. Patrick MEHLEN : « Facteurs de guidage neuronaux comme cibles thérapeutiques dans les glioblastomes »

CNRS UMR5286 - INSERM UMR1052, Lyon

Au cours des dernières années, les rôles clés des molécules/voies embryonnaires dans la tumorigenèse sont apparus et des candidats médicaments ciblant ces molécules/voies ont été développés. Cela a conduit à des essais cliniques ayant parfois conduit à un bénéfice clinique pour les patients - par exemple, le ciblage de la voie Sonic Hedgehog dans le carcinome basocellulaire et le médulloblastome.

L'idée généralement admise actuellement est que le programme multi-étapes de la tumorigenèse comprend la réactivation de plusieurs processus de développement tels que la transition épithélio-mésenchymateuse, la migration ou la résistance à l'apoptose. Parmi ces protéines développementales impliquées dans la tumorigenèse sont les facteurs de navigation axonale comme les netrines, les sémaphorines ou les éphrines. Plus spécifiquement, le groupe dirigé par P. Mehlen (Partenaire 1) a démontré au cours des dernières années que netrin-1, prototypique du guidage axonal, est surexprimée dans une grande fraction des cancers humains et a développé un anticorps monoclonal bloquant l'interaction netrin-1/récepteurs qui est maintenant évalué dans un essai clinique de phase II. Dans le cadre de cet appel spécifique sur les tumeurs cérébrales, les données publiées et les données préliminaires du partenaire 1 et du groupe de F. Ducray (partenaire 2) soutiennent l'idée que netrin-1 est également surexprimée dans une grande partie des glioblastomes (GBM) humains et joue un rôle dans la survie des cellules de GBM. Il est intéressant de noter qu'en sus de netrin-1, une autre molécule de guidage axonal -Draxin- semble également surexprimée dans les GBM et favorise la survie des cellules tumorales.

A partir de ces données préliminaires obtenues dans le GBM et la disponibilité de l'anticorps monoclonal anti-netrin-1, actuellement évalué dans un essai de phase II, notre projet à la fois fondamental et translationnel aura pour objectif (i) de démontrer le rôle de netrin-1 et de Draxin, et éventuellement d'autres signaux de guidage axonal connexes dans le GBM et (ii) d'établir la preuve de concept préclinique que le ciblage de netrin-1 et/ou de Draxin est associé à une inhibition de la croissance tumorale du GBM, qu'il soit utilisé seul ou en combinaison avec les traitements classiques du GBM. Ce projet associant à la fois des chercheurs fondamentaux (Partenaire 1 et Partenaire 2), des experts translationnels en pathologie du GBM (Partenaire 2 et Partenaire 3) et des cliniciens (Partenaire 2 et Partenaire 3) devrait conduire à la fin du projet à un essai clinique de phase 2 dans le GBM.

6. Giorgio SEANO : « Décodage de la plasticité de l'unité gliovasculaire et ciblage de ses vulnérabilités métaboliques dans la récurrence du glioblastome post-Stupp »

CNRS UMR3347 - INSERM U1021, Orsay

Le glioblastome (GBM) est une tumeur cérébrale de très mauvais pronostic, 90 % récidivant malgré un traitement agressif dit de Stupp (chirurgie et chimio-radiothérapie). Les cellules situées dans des environnements protecteurs et croissants à partir de la tumeur résiduelle sont une cause probable des récurrences.

L'unité gliovasculaire (GVU) faite de cellules tumorales, endothéliales, péricytaire, astrocytaire et immunitaire - est une niche protectrice favorisant la survie, la résistance au traitement et la dissémination des cellules de GBM. Elle a la pleine compétence pour jouer un rôle clé dans la récurrence mais son rôle dans ce processus est mal connu. Ce projet vise à explorer les trajectoires co-évolutives des cellules tumorales et stromales de la GVU au cours du protocole de Stupp et comprendre leurs bases moléculaires. La complexité de la GVU n'ayant pas été abordée au niveau de la cellule unique, nous la cartographierons chez les patients et dans les modèles animaux.

La plasticité de la GVU induite par le Stupp sera modélisée au niveau moléculaire et sur cellule unique grâce aux modèles précliniques, et les résultats validés sur des échantillons de tumeurs appariés de patients pré- et post-Stupp. L'analyse des vésicules extracellulaires, essentielles aux interactions cellule-cellule et à leur plasticité, fournira une signature biomarqueur de la progression du GBM au cours du Stupp. Les analyses moléculaires seront plus particulièrement axées sur l'identification des vulnérabilités métaboliques de la GVU, dont le ciblage devrait être efficace dans des paysages mutationnels variés.

Les équipes impliquées apportent une combinaison unique de modèles (purification des vaisseaux sanguins, microdissection laser, modèles murins de Stupp, collection de cellules et d'organoïdes de patients), d'outils moléculaires (imagerie multiplexe/pathologie digitale, snARN-seq, snATAC-Seq, biologie computationnelle) et d'expertises du GBM, métabolisme et biologie vasculaire inclus.

7. Claire PECQUEUR : « Ciblage des glioblastomes par transfert adoptif de lymphocytes T V γ 9V δ 2 exprimant OAcGD2-CAR »

CRCNA - INSERM U862, Nantes

Les traitements proposés pour le glioblastome (GBM) sont fortement limités par leur hétérogénéité et agressivité dans un organe essentiel. Ainsi, si l'identification de nouveaux traitements est un enjeu majeur, elle constitue également un challenge scientifique auquel l'immunothérapie pourrait répondre. En effet, si les premiers essais cliniques sont décevants, ils établissent la preuve de concept de la faisabilité d'un transfert adoptif intratumoral de lymphocytes T équipés d'un récepteur antigénique chimérique (CAR). Dans ce projet, nous souhaitons évaluer l'efficacité préclinique d'un transfert adoptif de lymphocytes T V γ 9V δ 2 (LTgd) exprimant un CAR dirigé contre la forme acétylée du GD2 (CAR-OAcGD2). En effet, nous avons montré que les LTgd sont capables de patrouiller dans le cerveau et d'éliminer certaines cellules de GBM et que le ganglioside OAcGD2 est exprimé spécifiquement par d'autres cellules de GBM. Ainsi, avec des méthodes moléculaires, biochimiques et phénotypiques, nous voulons démontrer et caractériser l'immunoréactivité des LT V γ 9V δ 2-CAR OAcGD2 dans des tumeurs et des modèles orthotopiques murins récapitulant l'hétérogénéité des tumeurs de GBM. Nous évaluerons également si les traitements actuels ou d'autres traitements pharmacologiques sont capables de potentialiser cette immunoréactivité. Nous identifierons les patients éligibles à cette immunothérapie. Enfin, dans une perspective de mise en place d'un essai clinique, cette étude va permettre d'établir un protocole de production en grade clinique de LTgd CAR-OAcGD2 sélectionnés à partir du patient (stratégie autologue) ou à partir d'un donneur sain (stratégie allogénique).

Ce projet implique 5 équipes localisées sur différents sites (Nantes, Angers, Caen et Paris) associant une importante expertise clinique du GBM, des équipes de recherche fondamentale très complémentaires et une équipe avec une bonne expertise du passage à la clinique de projet de transfert adoptif de lymphocytes T.