

Offre de Stage Master 2 (M2) : étude mécanistique de l'interaction entre les cellules NK et les anticorps anti-PD1 pour le traitement des lymphomes T par anticorps anti-PD1 de format IgG1.

AFFECTATION

ETABLISSEMENT : Université Paris-Est Créteil

COMPOSANTE OU DIRECTION : IMRB (Institut Mondor de Recherche Biomédicale – U955)

SERVICE/DEPARTEMENT/EQUIPE DE RECHERCHE : VIC/Equipe Ortonne

Contexte : Dans le cadre de notre projet de recherche, nous explorons l'utilisation d'un anticorps anti-PD1 bloquant de format IgG1 pour traiter les cellules cancéreuses des patients atteints de lymphomes T surexprimant PD1. Nous étudions plus particulièrement le Syndrome de Sézary, un lymphome T rare utilisé comme modèle pour études fonctionnelles en raison d'une phase leucémique permettant de purifier facilement les cellules tumorales (cellules de Sézary, CS) du sang. Nos études préliminaires in vitro ont montré que cet anticorps est capable d'éliminer les cellules tumorales sans affecter les cellules saines. Nous avons observé que malgré l'expression de PD1 par les lymphocytes normaux activés, les cellules NK (Natural Killer), qui interagissent avec l'anticorps via sa portion Fc, ciblent surtout les CS PD1+ par un mécanisme d'ADCC. Ils restent capables, comme les anti-PD1 classique de format IgG4, d'activer ces cellules T normales, ce qui constitue la base de l'immunothérapie classique par anticorps anti-PD1. Il est décrit dans la littérature que les cellules NK peuvent exprimer PD1, ce qui nous amène à nous interroger sur le rôle potentiel de la portion Fab de notre anticorps anti-PD1 dans la modulation de l'activation et l'activité cytotoxique des cellules NK, comme elle le fait pour les cellules T normales. Cela constituerait un atout pour le mécanisme d'ADCC anti-tumoral dans les lymphomes T PD1+, et un argument supplémentaire pour développer cette stratégie thérapeutique. Dans la mesure où les CS expriment PDL1 et PDL2, cela permettrait peut-être d'expliquer pourquoi les cellules NK éliminent de manière spécifique les cellules tumorales en présence de l'anticorps anti-PD1 de format IgG1.

Objectif du stage : L'objectif principal du projet est d'étudier la réponse des cellules NK au traitement par les anticorps anti-PD1 et plus particulièrement déterminer si la portion Fab de l'anticorps bloque une interaction entre PD1 des cellules NK et ses ligands (PDL1 et PDL2) exprimées par les CS, et permet d'accroître leur niveau d'activation et de cytotoxicité. Dans un premier temps, des tests de co-cultures (CS ou lignées de CS et NK purifiés de donneurs sains ou PBMC) seront effectués afin d'étudier l'expression de PD1 et des récepteurs activateurs et inhibiteurs de cytotoxicité par les cellules NK. Les conditions permettant d'obtenir une expression de PD1 par les cellules NK seront retenues pour la suite du projet. Dans un deuxième temps, nous étudierons dans le modèle le plus pertinent l'activité cytotoxique et l'expression de marqueurs d'activation et des récepteurs activateurs/inhibiteurs des cellules NK en présence d'anticorps bloquant anti-PD1 (formant IgG1 et IgG4 classique) ou d'un anticorps isotype contrôle. Si nous observons des modifications phénotypiques d'intérêt (niveau d'activation et balance entre récepteurs activateurs/inhibiteurs) et/ou une activité cytotoxique plus importante des cellules NK, elles seront purifiées pour étude des voies de signalisation impliquées en aval de l'engagement de PD1.

Missions : Le candidat sera impliqué dans les activités suivantes :

- Culture cellulaire.
- Techniques de séparation cellulaire par Ficoll.
- Phénotypage et analyse par cytométrie en flux.
- Techniques de Western blot.
- Utilisation de protéines arrays pour suivre des voies de signalisation.

Profil recherché :

- Étudiant en Master 2 (M2) en biologie, biotechnologie, ou domaine connexe.

- Connaissances de base en immunologie et biologie cellulaire.
- Expérience préalable en culture cellulaire.
- Autonomie, rigueur scientifique et capacité à travailler en équipe.

Durée et conditions :

- Durée : 6 mois
- Lieu : Institut de Recherche Biomédicale Mondor : Equipe ORTONNE (Neurofibromatosis and Lymphoma oncogenesis - NFL).

Candidature : Merci d'envoyer votre CV et une lettre de motivation aux adresses suivantes :

Nicolas.ortonne@inserm.fr Jérôme.giustiniani@inserm.fr sadjia.belkhouat@inserm.fr