

> Dans le cadre de leur module d'analyse scientifique, des étudiants de la promotion 2020-2021 des Master 2 « Immunologie Translationnelle et Biothérapies » (ITB) et « Immunologie Intégrative et Systémique » (I2S) (Mention Biologie Moléculaire et Cellulaire, Parcours Immunologie, Sorbonne Université) se sont penchés sur la littérature et ont pris la plume pour partager avec les lecteurs de m/s quelques-uns des faits marquants de l'actualité en immunologie. Voici une sélection de quelques-unes de ces nouvelles, illustrant la large palette des axes de recherche en cours sur les mécanismes physiopathologiques des maladies infectieuses, auto-immunes, inflammatoires et tumorales et sur le développement d'immunothérapies pour le traitement de ces maladies.

On y découvrira ainsi de nouvelles avancées sur la recherche d'anticorps neutralisants dans le traitement du paludisme, sur la constitution de banques d'organoides issus de tumeurs pédiatriques, sur la plasticité des voies de mort cellulaire en réponse aux infections bactériennes dans les macrophages, sur l'effet du récepteur de l'interleukine 1 (IL-1R) sur les neurones sensoriels dans la douleur associée aux maladies inflammatoires

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (39)

L'actualité scientifique vue par les étudiants du Master 2 « Immunologie Translationnelle et Biothérapies » (ITB) et « Immunologie Intégrative et Systémique » (I2S) (Mention Biologie Moléculaire et Cellulaire), Parcours Immunologie, Sorbonne Université



Contact Équipe pédagogique

Encarnita Mariotti-Ferrandiz (Maître de Conférences, Sorbonne Université)

encarnita.mariotti@sorbonne-universite.fr

Véronique Mateo (Maître de Conférences, Sorbonne Université)

veronique.mateo@sorbonne-universite.fr

Sophie Sibénil (Maître de Conférences, Sorbonne Université)

sophie.siberil@sorbonne-universite.fr

chroniques, et, enfin, sur la découverte de deux nouvelles cibles thérapeutiques dans le sepsis.

Toute l'équipe pédagogique remercie également chaleureusement les différents tuteurs, experts dans les domaines se rapportant aux Nouvelles, qui ont accompagné avec bienveillance et enthousiasme le travail de nos étudiants ! <

NOUVELLE

L9, un nouvel anticorps monoclonal prometteur contre le paludisme

Théo Cools¹, Marie Jeanpierre¹, Valérie Soulard²

> Le paludisme, ou malaria, est une maladie parasitaire potentiellement mortelle, causée par le parasite protozoaire *Plasmodium* et transmise par les moustiques du genre *Anopheles*. En 2018, la moitié de la population mondiale vivait toujours dans une zone d'endémie palustre et plus de 400 000 décès annuels étaient recensés par l'Organisation mon-

diale de la santé (OMS), dont 94 % en Afrique sub-saharienne [1]. Entre 2001 et 2013, l'intensification des moyens de lutte contre la maladie, comme la distribution massive de moustiquaires imprégnées d'insecticide, a permis un recul de près de 47 % du nombre de décès imputables au paludisme [2]. Cependant, depuis 2015, ce pourcentage stagne. Est

¹ Master 2 Immunologie Translationnelle et Biothérapies (ITB), Parcours Immunologie, Mention BMC, Sorbonne Université, Paris, France.

² Sorbonne Université, Inserm, CNRS, Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses-Paris, CIMI-PARIS, 75013 Paris, France.

theo.cools@orange.fr

m.jeanpierre08@hotmail.com

valerie.soulard@sorbonne-universite.fr

en cause, notamment, le développement de résistances du moustique aux insecticides et du parasite aux médicaments antipaludiques. De plus, le vaccin antipaludique le plus avancé (RTS,S)¹ ne

¹ Constitué de l'antigène RTS : épitope T de la protéine circumsporozoite fusionné à l'extrémité N-terminale de la protéine d'enveloppe du virus de l'hépatite B, associé à la protéine S du virus.



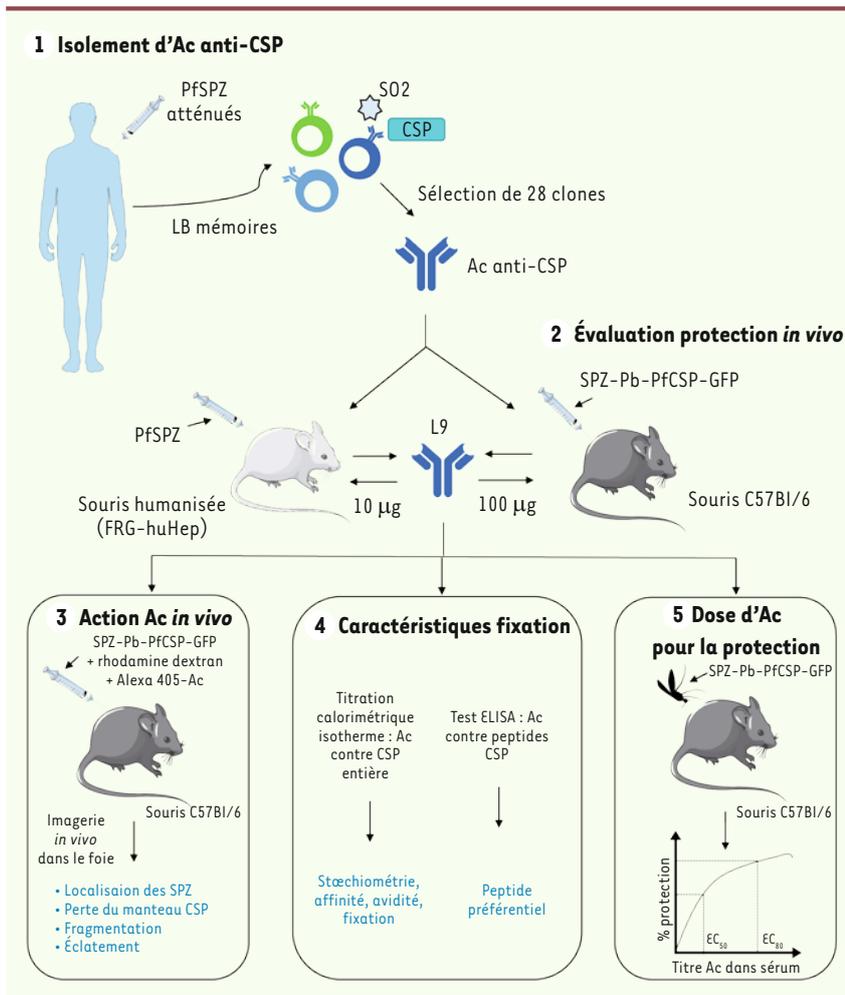


Figure 1. Stratégie mise en place pour l'identification de nouveaux anticorps à forte activité neutralisante et corrélation avec l'épitope reconnu. (1-2) Les anticorps spécifiques de la région jonctionnelle de la CSP (sonde peptidique S02 et protéine entière CSP), issus d'un individu immunisé protégé, ont été isolés et testés pour leur rôle protecteur *in vivo*. L'anticorps monoclonal (AcM) L9 a montré une efficacité supérieure à celle d'autres AcM injectés à la même dose. Néanmoins, les doses protectrices diffèrent selon le modèle animal utilisé (100 µg versus 10 µg). L'AcM L9, ainsi que d'autres AcM à fort potentiel neutralisant, ont ensuite été étudiés par imagerie afin d'explorer les mécanismes à la base de leur activité neutralisante *in vivo* (3) ainsi que pour leurs caractéristiques de fixation *in vitro* vis-à-vis de peptides d'intérêt et de la CSP entière (4). Enfin, la protection conférée par cet AcM a été confirmée en infectant les souris par piqûres de moustiques, un mode d'infection plus proche de la réalité (5). SPZ : sporozoïte ; PfSPZ : sporozoïtes de *P. falciparum* ; LB : lymphocyte B ; Ac : anticorps ; CSP : *circumsporozoïte protein* ; EC : *effective concentration*.

confère qu'une protection limitée et peu durable : 30 % d'efficacité à 4 ans [3]. Il est donc indispensable de chercher à améliorer les traitements existants et également d'en trouver de nouveaux. Cinq espèces de *Plasmodium* infectent l'homme mais c'est *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) qui est respon-

sable de 99,7 % des décès [1]. L'infection débute lorsque les sporozoïtes, la forme invasive et mobile du parasite, sont inoculés dans le derme par le moustique infecté lors d'un repas sanguin [4]. Les sporozoïtes gagnent alors la circulation sanguine et atteignent le foie où ils envahissent les hépato-

cytes et s'y multiplient. Cette phase du développement parasite constitue les stades pré-érythrocytaires. À maturité, les parasites quittent le foie, puis passent dans le sang où ils envahissent les globules rouges pour s'y multiplier et initier le stade érythrocytaire associé aux symptômes (fièvre, céphalée, frissons). Certains parasites se différencient alors en gamétocytes, qui, ingérés par un moustique sain lors d'un repas de sang, perpétueront le cycle de vie du parasite chez l'hôte vecteur. Les stades pré-érythrocytaires, et plus particulièrement le stade sporozoïte, extracellulaire, représentent une cible vaccinale de premier choix. En effet, bloquer le développement du parasite avant son entrée dans le foie permettrait d'abolir à la fois les symptômes de la maladie et la transmission du parasite.

La cible du vaccin sous-unitaire RTS,S est la protéine circumsporozoïte ou CSP, protéine de surface majeure du sporozoïte, essentielle à sa motilité et à l'invasion des hépatocytes [5, 6]. Cette protéine est divisée en 3 parties : une partie N-terminale, une partie C-terminale et, entre les deux, des motifs répétés d'acides aminés (NANP, NVDP). Le vaccin RTS,S est composé de certains de ces motifs répétés et de la partie C-terminale de la CSP fusionnée à l'antigène de surface du virus de l'hépatite B : AgHBs.

Récemment, des anticorps monoclonaux (AcM) (l'AcM CIS43, notamment) ciblant la région jonctionnelle entre la partie N-terminale et les motifs répétés de la CSP ont été décrits chez des individus immunisés avec des sporozoïtes de *P. falciparum* vivants atténués par irradiation (vaccin PfSPZ de *Sanaria*) (*Sanaria*® PfSPZ-CVac) [7, 8] et ont montré une efficacité de neutralisation des sporozoïtes supérieure à celle des AcM induits par le vaccin RTS,S et ciblant la région immuno-dominante. La faible efficacité du vaccin pourrait donc être liée à un choix non optimal des motifs antigéniques ciblés sur la CSP. C'est dans l'optique de mieux

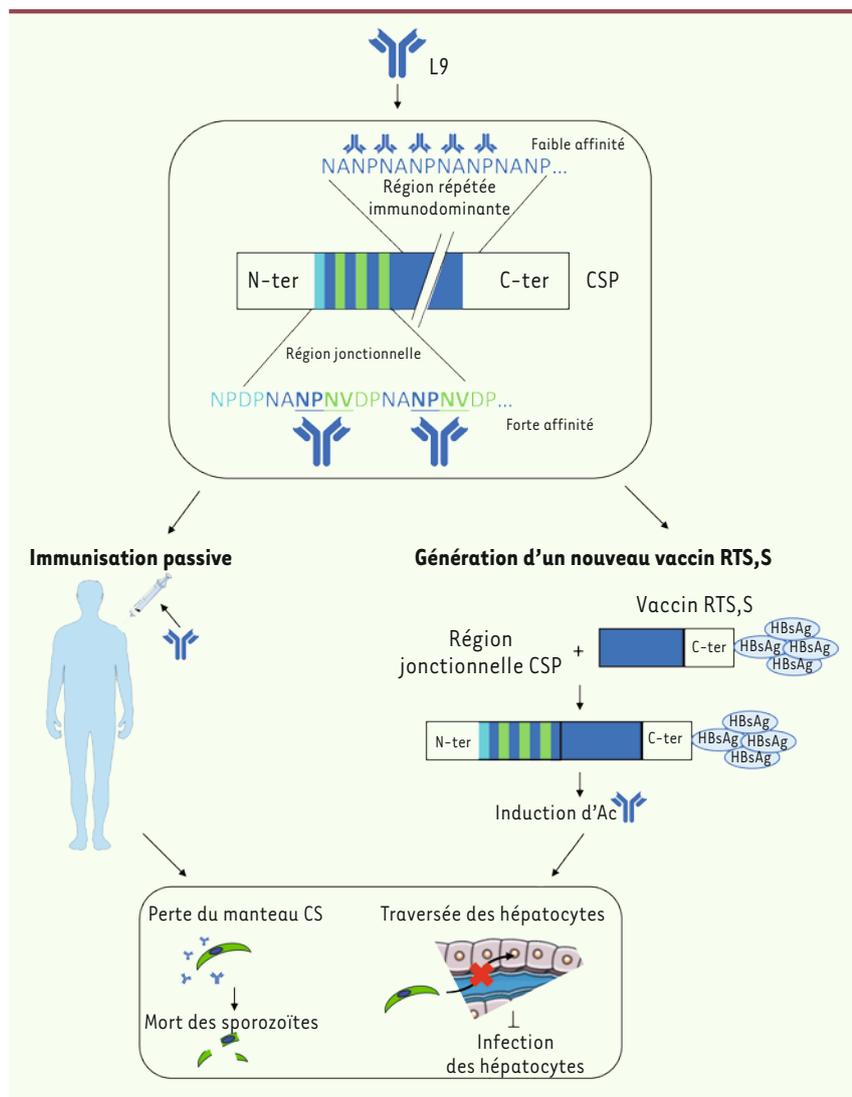


Figure 2. Apport de la découverte de l'anticorps L9 à forte activité neutralisante dans le développement de thérapies antipaludiques. En suivant la stratégie expérimentale présentée dans la Figure 1, les auteurs ont identifié un nouvel AcM neutralisant, L9, conférant chez la souris une protection très supérieure à celle obtenue avec d'autres AcM neutralisants préalablement identifiés. Cet AcM possède plusieurs sites de fixation sur la CSP des sporozoïtes, situés dans la région jonctionnelle et dans la région immuno-dominante. La fixation aux motifs faiblement répétés NPNV de la région jonctionnelle est de plus forte affinité que celle pour la région immuno-dominante. Deux applications thérapeutiques peuvent alors être envisagées pour des traitements prophylactiques antipaludiques : l'immunsation passive avec l'AcM L9 ou l'ajout de la région jonctionnelle au vaccin RTS,S existant, afin d'induire des anticorps ayant les mêmes spécificités mais aussi les mêmes propriétés fonctionnelles que L9 : une activité cytotoxique sur les sporozoïtes conduisant à leur mort et une capacité à inhiber leur traversée des hépatocytes et donc l'infection de ces derniers. CSP : *circumsporozoïte protein* ; Ac : anticorps.

caractériser ces AcM au potentiel protecteur supérieur que l'équipe de R.A. Seder, grâce à des approches originales, est parvenue à isoler un nouvel AcM prometteur, L9 [9].

Mise en évidence d'un nouvel anticorps neutralisant les sporozoïtes de *P. falciparum* *in vivo*

À partir de sérums d'individus immunisés avec un nombre élevé de sporozoïtes

vivants atténués et protégés de l'infection d'épreuve (infection avec des parasites vivants non atténués pour définir l'efficacité de la protection induite par un vaccin), les auteurs ont identifié les individus exprimant des AcM ciblant la région jonctionnelle de la CSP. L'individu présentant la concentration la plus élevée d'AcM ciblant la sonde S02, mimant le peptide de la région jonctionnelle reconnu par le clone CIS43, a alors été sélectionné et ses lymphocytes B (LB) mémoires clonés. Vingt-huit clones ont ainsi été isolés, puis les AcM ont été testés pour leur rôle protecteur vis-à-vis de l'infection par *P. falciparum* *in vivo*. *P. falciparum* étant strictement spécifique de l'homme, les auteurs ont utilisé deux approches pour déterminer l'effet neutralisant de ces anticorps : les AcM candidats ont été injectés 1) dans des souris C57Bl/6 infectées avec le parasite de rongeurs *P. berghei*, modifié génétiquement pour exprimer la CSP de *P. falciparum* (PfCSP) fusionnée avec la GFP (*green fluorescent protein*) et la luciférase (Luc) (Pb-PfCSP-GFP/Luc) ; 2) dans des souris immunodéficientes humanisées, greffées avec des hépatocytes humains (FRG-huHep-mice), avant infection avec des sporozoïtes de *P. falciparum* (PfSPZ) [10]. En quantifiant la charge hépatique parasitaire *in vivo*, par bioluminescence dans le premier modèle et par qPCR (*quantitative polymerase chain reaction*) dans le second, les auteurs ont identifié un AcM neutralisant, L9. Celui-ci confère une meilleure protection que l'AcM CIS43 déjà décrit [7] et permet d'atteindre un niveau indétectable de parasite après injection de seulement 10 µg d'anticorps.

Première observation *in vivo* des mécanismes d'action des anticorps neutralisants dans le foie

Les auteurs ont ensuite déterminé par imagerie *in vivo* les modes d'action de L9 en le comparant à d'autres AcM spécifiques des sporozoïtes de *P. falciparum* [7, 11-13]. Pour cela, des souris C57BL/6 ont été injectées avec les différents AcM

couplés à l'Alexa-405 et avec de la rhodamine-dextran pour marquer les cellules traversées par les parasites, avant d'être inoculées avec des sporozoïtes du parasite Pb-PfCSP-GFP/Luc. Les auteurs ont ainsi pu décrire pour la première fois *in vivo* l'effet des AcM sur le devenir des parasites dans les sinusoides hépatiques et sur la traversée des hépatocytes par les sporozoïtes, étape critique pour l'infection [14]. Ils ont ainsi observé qu'en présence des AcM, les sporozoïtes présents dans les sinusoides et traversant les hépatocytes se débarrassent de leur manteau de CSP et se fragmentent, ce qui provoque leur mort, phénomène de « *dotty death* » déjà rapporté dans la peau [15]. Remarquablement, après fixation de l'AcM L9, ils ont également observé un autre type de mort, par éclatement des parasites, phénomène cytotoxique qui reste néanmoins minoritaire. Grâce à ces expériences, les auteurs concluent à une neutralisation et une activité cytotoxique sur les sporozoïtes de quatre des AcM testés, dont L9, et cela avant que le parasite ne débute son développement dans l'hépatocyte.

Une double spécificité des anticorps corrélée à leur capacité de neutralisation ?

Pour tenter de corréler le potentiel protecteur *in vivo* des AcM avec leurs sites de fixation, deux méthodes ont été utilisées : l'ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) pour mettre en évidence les motifs de fixation préférentiels des AcM, et la titration calorimétrique isotherme pour préciser la stœchiométrie et l'affinité de liaison des AcM à la CSP. En réalisant ces expériences avec la protéine PfCSP, les auteurs ont pu mettre en évidence que quatre AcM ayant démontré un fort potentiel protecteur *in vivo* présentaient des caractéristiques de fixation similaires. En effet, ils présentaient tous une double spécificité, d'une part pour un épitope particulier constitué d'acides aminés dans la région jonctionnelle N-terminale, et, d'autre part, pour un épitope localisé dans la région immuno-domi-

nante (NANP). Néanmoins, les affinités de ces AcM pour ces épitopes varient. En effet, les AcM L9 et CIS43 ont montré une plus forte affinité pour les épitopes localisés dans la région jonctionnelle, respectivement NPNV et DPNA, contrairement aux deux autres AcM testés, qui se fixent préférentiellement à l'épitope immuno-dominant (NANP). En conclusion, les résultats obtenus suggèrent une corrélation entre la double spécificité pour les épitopes jonctionnels et immuno-dominant et le haut niveau de protection conféré par ces anticorps *in vivo*.

Quel futur pour les thérapies antipaludiques à la lumière de ces résultats ?

Ces travaux suggèrent donc que les régions N-terminale et jonctionnelle de la CSP représentent des cibles très prometteuses pour l'amélioration ou le développement de nouvelles thérapies antipaludiques. Plus spécifiquement, la découverte de l'anticorps L9 est importante, car son épitope préférentiel (NPNV) est présent dans 100 % des souches de terrain de *P. falciparum* testées par les auteurs, indiquant son potentiel pour l'obtention d'une protection croisée « universelle ».

Il est possible d'envisager au moins deux approches thérapeutiques issues de ces travaux. La première approche reposerait sur l'immunisation passive avec l'AcM L9. Ce type de thérapie à base d'anticorps monoclonaux hautement neutralisants est d'ailleurs actuellement testée pour la prise en charge de l'infection par le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) [16]. La pharmacocinétique de l'AcM et la dose adéquate à injecter seront des facteurs clefs dans cette démarche. De plus, il sera nécessaire de déterminer quel modèle animal utilisé par les auteurs, les souris humanisées infectées avec des sporozoïtes de *P. falciparum* ou les souris C57BL/6 infectées avec les sporozoïtes de *P. berghei* génétiquement modifiés, est le plus pertinent d'un point de vue préclinique, ces deux modèles murins ayant conduit à des valeurs très diffé-

rentes de concentrations protectrices. La seconde approche reposerait sur l'ajout des séquences N-terminale et jonctionnelle au vaccin RTS,S existant afin d'augmenter son efficacité de protection. Il est important de noter que si l'ajout de ces séquences induit effectivement la production d'anticorps à fort potentiel neutralisant, la durée de vie de cette réponse lymphocytaire B protectrice devra elle aussi être prise en compte car, actuellement, la protection conférée par le vaccin RTS,S n'est que de courte durée.

Enfin, rappelons que l'utilisation de ces thérapies fondées sur la neutralisation des sporozoïtes doit reposer sur une neutralisation totale. En effet, dans le cas où même un seul sporozoïte échapperait à cette neutralisation, compte tenu de la capacité de multiplication massive du parasite au niveau hépatique, cela suffirait à engendrer le stade érythrocytaire, et donc à déclencher la maladie. ♦

L9, a novel and promising monoclonal antibody against Malaria

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. World Health Organization. *World malaria report 2019*, SI. Geneva : WHO, 2019.
2. World Health Organization. *Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030*. Geneva : WHO, 2015.
3. RTS,S Clinical trials partnership. efficacy and safety of RTS,S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomised, controlled trial. *Lancet* 2015 ; 386 : 31-45.
4. Cockburn IA, Seder RA. Malaria prevention: from immunological concepts to effective vaccines and protective antibodies. *Nat Immunol* 2018 ; 19 : 1199-211.
5. Cohen J, Nussenzweig V, Vekemans J, et al. From the circumsporozoite protein to the RTS,S/AS candidate vaccine. *Human Vaccines* 2010 ; 6 : 90-6.
6. Sinnis P, Nardin E. Sporozoite antigens: biology and immunology of the circumsporozoite protein and thrombospondin-related anonymous protein. *Chem Immunol* 2002 ; 70-96.
7. Kisalu NK, Idris AH, Weidle C, et al. A human monoclonal antibody prevents malaria infection by targeting a new site of vulnerability on the parasite. *Nat Med* 2018 ; 24 : 408-16.
8. Murugan R, Scally SW, Costa G, et al. Evolution of protective human antibodies against *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein repeat motifs. *Nat Med* 2020 ; 26 : 1135-45.



RÉFÉRENCES

9. Wang LT, Pereira LS, Flores-Garcia Y, et al. A Potent anti-malarial human monoclonal antibody targets circumsporozoite protein minor repeats and neutralizes sporozoites in the liver. *Immunity* 2020 ; 53 : 733-44.
10. Vaughan AM, Mikolajczak SA, Wilson EM, et al. Complete *Plasmodium falciparum* liver-stage development in liver-chimeric mice. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 3618-28.
11. Oyen D, Torres JL, Wille-Reece U, et al. Structural basis for antibody recognition of the NANP repeats in *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017 ; 114 : 10438-45.
12. Tan J, Sack BK, Oyen D, et al. A public antibody lineage that potently inhibits malaria infection through dual binding to the circumsporozoite protein. *Nat Med* 2018 ; 24 : 401-7.
13. Imkeller K, Scally SW, Bosch A, et al. Antihomotypic affinity maturation improves human B cell responses against a repetitive epitope. *Science* 2018 ; 360 : 1358-62.
14. Yang ASP, O'Neill MT, Jennison C, et al. Cell traversal activity is important for plasmodium falciparum liver infection in humanized mice. *Cell Rep* 2017 ; 18 : 3105-16.
15. Aliprandini E, Tavares J, Panatieri RH, et al. Cytotoxic anti-circumsporozoite antibodies target malaria sporozoites in the host skin. *Nat Microbiol* 2018 ; 3 : 1224-33.
16. Burton DR, Hangartner L. Broadly neutralizing antibodies to hiv and their role in vaccine design. *Annu Rev Immunol* 2016 ; 34 : 635-59.

NOUVELLE

Une banque d'organoïdes pour aider les enfants atteints d'un cancer du rein

Séverine Grinberg¹, Isaure Rous¹, Jérôme Cartry²

► Depuis les premières études du cancer chez l'enfant, qui datent de la deuxième moitié du XIX^e siècle, de multiples sous-types de cancers ont été mis en évidence, conduisant à l'élaboration de stratégies thérapeutiques variées. Malgré un taux de guérison en considérable augmentation ces dernières décennies, les différents cancers pédiatriques restent la deuxième cause de mortalité chez l'enfant de plus de un an en France, après les accidents [1]¹. Parmi les différents types de cancers de l'enfant, le cancer du rein est un des plus prépondérants, représentant 7 % des tumeurs infantiles. On distingue plusieurs types de tumeurs, qui présentent des profils génétiques, histologiques et d'agressivité très variés. Les tumeurs de Wilms représentent 90 % des tumeurs rénales infantiles. Parmi les 10 % restants, on trouve les tumeurs rhabdoïdes malignes (MRTK), les carcinomes des cellules rénales (RCC), et de nombreux sous-types cancéreux à l'incidence très faible. Le problème majeur de ces cancers est qu'il n'existe que très peu de modèles expérimentaux permettant de représen-

ter leur diversité génétique et phénotypique. Les quelques modèles murins de cancers du rein infantiles sont rarement aussi complexes et hétérogènes que les cancers humains, ce qui peut conduire à des résultats biaisés. La recherche et la découverte d'innovations thérapeutiques sont donc considérablement ralenties. Pour répondre à ces défis, l'équipe de Jarno Drost, dans l'unité de recherche dirigée par Hans Clevers (Institut Oncode, Pays-Bas), a travaillé sur la mise en place d'une banque d'organoïdes à partir de tissus tumoraux et sains issus de biopsies et de chirurgies rénales [2].

Établissement d'une banque d'organoïdes dérivés de tumeurs du rein de jeunes patients

Les organoïdes sont des structures cellulaires tridimensionnelles qui reproduisent les caractéristiques des tissus dont les cellules sont originaires. Ils conservent de façon stable les caractéristiques phénotypiques et génétiques des tissus parentaux, qu'ils soient sains ou pathologiques [3]. Une fois formés, les organoïdes peuvent être conservés et multipliés en laboratoire, ce qui permet de mener des expérimentations très

¹Master 2 Immunologie Translationnelle et Biothérapies (ITB), Parcours Immunologie, Mention BMC, Sorbonne Université, Paris, France.

²Inserm U1279, *Collective Invasion* (Fanny Jaulin), Institut Gustave Roussy, France.

severinegrinberg@orange.fr

rousisaure@gmail.com

jerome.cartry@gustaveroussy.fr

exhaustives. Un autre de leurs avantages majeurs est leur résistance à la cryo-préservation. Il est donc possible de les conserver et de les échanger entre laboratoires. Depuis le début des années 2010 et le travail pionnier de l'équipe de Hans Clevers sur les organoïdes intestinaux, le nombre de tissus pour lesquels des banques d'organoïdes ont été générées ne cesse d'augmenter (→).

En 2020, l'équipe de Jarno Drost a développé un protocole permettant de constituer une banque d'organoïdes à partir de prélèvements tumoraux issus de jeunes patients atteints d'un cancer du rein [3]. Les échantillons tumoraux ont été récupérés, soit par biopsie, soit à partir de la pièce opératoire des patients opérés pour des néphrectomies. Les contrôles (tissu sain) provenaient de pièce en périphérie, non tumorales. Dans cette étude, les échantillons tumoraux ont été soumis à une digestion mécanique et enzymatique pour isoler les cellules cancéreuses. Afin de limiter l'anoïkose, une forme spécifique d'apoptose induite par la séparation des cellules et due à un défaut d'interac-

(→) Voir la série
(en cours)
« Organoïdes, m/s
2019-2021

¹ <https://www.aphp.fr/contenu/la-prise-en-charge-des-cancers-de-lenfant-et-de-ladolescent-lap-hp>