

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Institut Mondor de Recherche Biomédicale. Inserm U955- Equipe 21 –
Physiopathologie des Maladies Rénales

Adresse complète : Hôpital Henri Mondor, Inserm U955 RDC haut, 1 rue Gustave Eiffel,
94010, Créteil, FRANCE

Thématique de recherche : Syndromes néphrotiques et dysimmunités

Ecole doctorale de rattachement : Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé –
Université Paris-Est

Responsable de l'équipe : Pr. Djillali SAHALI
N° de téléphone : 01 49 81 25 37
Adresse électronique : dil.sahali@inserm.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Dr. Sabine LE GOUVELLO
N° de téléphone : 01 49 81 26 64
Adresse électronique : sabine.le-gouvello@inserm.fr

Titre du sujet : Etude de l'expression de l'histone H2A.J dans les cellules immunes en
fonction de l'âge.

Mots clefs : sénescence ; lymphocyte T ; lymphocyte B ; macrophage ; cellules dendritiques
folliculaires ; histone H2A.J

Résumé du sujet (en quelques lignes) : Il est généralement admis que vieillir est associé à la
défaillance progressive du système immunitaire. La réponse immunitaire à la vaccination ou

à l'infection nécessite une collaboration entre différents types de cellules immunitaires et stromales notamment celle qui intervient dans les centres germinatifs des follicules lymphoïdes entre lymphocytes B, lymphocytes T CD4+, cellules dendritiques, macrophages et cellules stromales. Avec l'âge, l'amplitude et la qualité de cette réponse diminue en raison de la détérioration qualitative et/ou quantitative de ces différentes cellules, en parallèle de l'acquisition d'un état basal pro-inflammatoire et de l'augmentation des processus auto-immuns. Les mécanismes moléculaires sous-jacents associés sont encore peu connus.

L'augmentation d'expression du variant d'histone H2A.J a été montrée dans des cellules épithéliales glandulaires et dans des cellules sénescences : fibroblastes et certains sous-types de lymphocytes T (*Contrepoids K., Nature Comm.2017 ; Nguyen QH., IJROBP, 2020 ; Redon C., Genes 2021*). Son accumulation en réponse à des stress réplicatifs ou oxydants a été associée à l'expression de gènes pro-inflammatoires mais son mode d'action reste inconnu.

L'objectif du stage de M2 sera d'analyser l'expression d'H2A.J dans les organes lymphoïdes secondaires au cours du vieillissement, en l'absence de stress extérieur. Le stagiaire M2 utilisera pour cela une approche tissulaire comparative : coloration HE + Immunohistochimie + ImmunoFluorescence confocale de coupes de thymus, rate et ganglions périphériques provenant de souris âgées de 2 mois / 6 mois / 12 mois / 18 mois disponibles dans le laboratoire d'accueil.

L'analyse de l'expression de H2A.J sera effectuée grâce la disponibilité d'un anticorps spécifique fourni par le Dr. C. Mann (*I2BC-Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, Université Paris-Saclay*), et sera couplée à celle de marqueurs des différentes populations immunes CD45^{pos} d'intérêt : anti-CD3e (lymphocyte T), anti-CD45R/B220 (lymphocyte B), CD11b, CD11c, F4/80 (macrophage et cellules dendritiques), et stromales CD45^{neg} : CD31 (PECAM-1) et gp38 (podoplanin). Les niveaux d'expression d'H2A.J seront comparés à l'aide du logiciel IMAGE.J

Les résultats de ce travail devraient permettre i) de valider la sur-expression d'H2A.J comme marqueur de sénescence spécifique de certaines cellules immunes âgées, et ii) d'avancer dans notre compréhension de l'acquisition du phénotype inflammatoire spécifique de certaines cellules immunes au cours du vieillissement.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : INSERM UMR 996 Inflammation, Microbiome and Immunosurveillance –

équipe 2 : Drug and Chemical Allergy, Immunotoxicology And Immunopathology

Adresse complète : Université Paris-Saclay - UFR de pharmacie - Batiment Moissan – Pôle BPC

Thématique de recherche : Mécanismes immunologiques de l'Allergie aux médicaments et aux produits chimiques

Ecole doctorale de rattachement : ED 569 - INNOVATION THÉRAPEUTIQUE: DU FONDAMENTAL À L'APPLIQUÉ

Responsable de l'équipe : Pr Marc Pallardy

N° de téléphone : 01 46 83 53 35

Adresse électronique : marc.pallardy@universite-paris-saclay.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Vanessa Granger-MCUPH

N° de téléphone : 01 46 83 57 80

Adresse électronique : vanessa.granger@universite-paris-saclay.fr
vanessa.granger@aphp.fr

Titre du sujet : Implication des mitochondries dans la production des Neutrophil Extracellular Traps ou NETs. Application au choc anaphylactique aux curares.

Mots clefs : Neutrophil Extracellular Traps - neutrophile - mitochondrie - formes réactives de l'oxygène - allergie

Résumé du sujet :

La nétose est un mécanisme effecteur du polynucléaire neutrophile aboutissant à la libération dans le milieu extracellulaire de filaments d'ADN recouverts de nombreuses protéines. Ces

filaments, appelés « neutrophil extracellular traps » (NETs) ont un rôle bénéfique dans la défense anti-infectieuse mais s'avèrent également délétères en cas de production excessive ou inappropriée. Une forme rapide de nétose impliquant des formes réactives de l'oxygène dérivées des mitochondries et/ou une libération d'ADN mitochondrial pourrait être impliquée dans des mécanismes allergiques et inflammatoire aigus. Le but de ce projet est de poursuivre les travaux *in vitro* de notre équipe sur les mécanismes impliqués dans cette forme originale de nétose, et son intrication avec la nétose dite classique, impliquant l'ADN nucléaire et les formes réactives de l'oxygène dépendant de la NOX2. De plus, la participation de ce mécanisme nouveau dans la physiopathologie du choc anaphylactique sera évaluée grâce à la cohorte clinique ENDOPHEN de chocs aux curares constituée en 2022 et coordonnée par notre équipe.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : INSERM U996. Equipe I - Immunorégulation, Chimiokines et Persistance Virale

Adresse complète :

INSERM UMR996 - Inflammation, Microbiome et Immunosurveillance
32 rue des Carnets - 92140 Clamart.

Thématique de recherche :

Immunorégulation, effecteurs du système immunitaires dont Chimiokines et Persistance Virale

Ecole doctorale de rattachement : Innovation Thérapeutique du Fondamental à l'Appliqué.

Responsable de l'équipe : Dr. Françoise BACHELERIE

N° de téléphone : 01 41 28 80 05

Adresse électronique : francoise.bachelerie@universite-paris-saclay.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Dr. Franck GESBERT

N° de téléphone : 01 41 28 80 14

Adresse électronique : franck.gesbert@universite-paris-saclay.fr

Titre du sujet : Exploration biochimique et fonctionnelle d'un nouvel effecteur de la chimiokine CXCL12 et son récepteur CXCR4.

Mots clefs : Immunodéficiences, Biologie Cellulaire, Signalisation, cibles thérapeutiques

Résumé du sujet : Le projet de recherche vise à caractériser la biologie d'une petite protéine G comme nouvel effecteur de l'axe de signalisation formé par la chimiokine CXCL12 et son récepteur CXCR4. Les fonctions biologiques de CXCL12 qui sont largement impliquées dans le contrôle de processus immunitaires et de défense de l'hôte sont fréquemment altérées dans les immunodéficiences et les pathologies infectieuses. A cet égard, la dérégulation de cet axe est responsable du syndrome WHIM (WS) ; une immunodéficiences primaire rare se caractérisant par une pan-leucopénie profonde et une susceptibilité sélective aux pathologies dues aux infections par les papillomavirus humains (HPV). Alors que la majorité des patients sont porteurs de mutations gain de fonction dans un allèle de CXCR4, certains, de manière inattendue, sont porteurs d'un gène CXCR4 sauvage. Notre équipe a identifié, sur la base de l'analyse de l'exome complet d'un patient WS, une nouvelle mutation dans un allèle d'un gène codant pour une petite protéine G dont nous nous attachons à caractériser le phénotype et l'implication dans la pathogenèse du WS afin d'en déduire le rôle de ce nouvel effecteur dans la signalisation et les fonctions biologiques de l'axe CXCL12/ CXCR4.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil : Signalisation des cytokines, INSERM U1224
Institut Pasteur, Département d'Immunologie, 25 rue du Dr. Roux, 75015, Paris

Thématique de recherche : Interférons de type I

Ecole doctorale de rattachement : ED394

Responsable de l'équipe : Sandra Pellegrini
N° de téléphone : 01 45 68 86 35, sandra.pellegrini@pasteur.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Frédérique MICHEL, HDR, DR-IP
N° de téléphone : 01 45 68 86 38, frederique.michel@pasteur.fr

Titre du sujet : CD4+ T cell microRNAs signatures in multiple sclerosis

Mots clefs : Type I interferons, CD4+ T cell response, multiple sclerosis

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

We study the immunomodulatory activity of type I interferons (IFN α/β) on CD4+ T cell responses in patients with multiple sclerosis (MS) and healthy donors. The common form of the disease is relapsing-remitting and can be treated by IFN β as a first-line therapy. However, the disease can evolve in time towards a secondary progressive form. In this context, we are interested in the identification of prognostic biomarkers.

MiRNAs are small non-coding RNAs that post-transcriptionally regulate gene networks involved in vital biological processes, notably T cell differentiation and function. Moreover, distinct miRNA signatures are reported according to immune cell type and physio-pathological context. The objectives are: 1- to determine by RT-qPCR if a set of miRNAs is differentially expressed in CD4+ T cell subsets purified by flow cytometry from MS patients and healthy subjects. 2- to study the functional impact of some miRNAs on T cell responses using a T cell line model and primary CD4+ T cells. 3- to investigate whether miRNAs signatures can be associated with disease activity.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : MICALIS (Microbiologie de l'Alimentation au service de la Santé)

Adresse complète : Equipe ProbiHôte, INRAE U1319, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas

Thématique de recherche : Immunologie mucosale, Inflammation et Microbiologie

Ecole doctorale de rattachement : Biosigne

Responsable de l'équipe : Dr. Philippe Langella

N° de téléphone : 01.34.65.20.70

Adresse électronique : philippe.langella@inrae.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Dr. Marie-Laure Michel

N° de téléphone : 01.34.65.24.88

Adresse électronique : marie-laure.michel@inrae.fr

Titre du sujet : Interaction des cellules lymphoïdes avec le microbiote : impact dans l'inflammation intestinale

Mots clefs : cellules lymphoïdes, microbiote, tractus digestif, métabolites, inflammation

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Les maladies inflammatoires intestinales telles que la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique, affectent 4 millions de gens dans le monde ; mais ni les bases génétiques ni les réponses immunes impliquées sont comprises. Dans ce but, le microbiote intestinal est activement examiné, notamment son interaction avec les cellules immunes de l'hôte¹. Nos données ont révélé que le microbiote intestinal est capable de moduler in vitro et in vivo les propriétés fonctionnelles des cellules lymphoïdes innées mucosales et les lymphocytes T².

Responsables Paris-Saclay : Pr Olivier Lambotte

Pr Géraldine Schlecht-louf

Responsables UPEC: Pr Véronique Godot

Pr Jean-Daniel Lelièvre

Ainsi, le but de notre projet de recherche est d'identifier les mécanismes et les métabolites impliqués dans cette régulation et d'évaluer leur impact dans l'inflammation intestinale. Ceci contribuera à comprendre la physiologie intestinale et les mécanismes environnementaux impliqués dans les maladies intestinales et ouvrira des voies thérapeutiques potentielles.

1. Lavelle A and Sokol H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020 Apr;17(4):223-237.
2. Dupraz L, Magniez A, Rolhion N, Richard ML, Da Costa G, Touch S, Mayeur C, Planchais J, Agus A, Danne C, Michaudel C, Spatz M, Trottein F, Langella P, Sokol H and **Michel ML**. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids regulate IL-17 production by mouse and human intestinal $\gamma\delta$ T cells. *Cell Reports* 2021 Jul 6;;36(1):109332

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : BioMaps (Laboratoire d'imagerie biomédicale multimodale Paris Saclay) - UMR9011

Adresse complète : 4 Place du Général Leclerc, 91400 Orsay

Thématique de recherche : Imagerie du système immunitaire

Ecole doctorale de rattachement : INNOVATION THÉRAPEUTIQUE : DU FONDAMENTAL À L'APPLIQUÉ (ITFA)

Responsable de l'équipe : Vincent Lebon

N° de téléphone : 01.69.86.77.01

Adresse électronique : vincent.lebon@universite-paris-saclay.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Charles TRUILLET

N° de téléphone : 01.69.86.77.27

Adresse électronique : charles.truillet@universite-paris-saclay.fr

Titre du sujet : Etudier l'impact du système immunitaire cérébral et périphérique au niveau de gliomes dans le cadre de l'optimisation d'une nouvelle stratégie thérapeutique couplant immunothérapie et ultrasons focalisés.

Mots clefs : Système immunitaire cérébrale et périphérique, Immunothérapie, Ultrasons focalisés, Imagerie.

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

L'ouverture de la barrière hématoencéphalique (BHE) induite par les ultrasons focalisés (FUS) offre de nouvelles possibilités pour la modulation immunitaire du système nerveux central et

périphérique à travers les 3 principaux mécanismes suivants : (1) en augmentant la concentration locale d'anticorps monoclonaux (mAb) dans le cerveau qui peuvent stimuler l'activité immunologique, (2) en induisant ou en améliorant l'infiltration des cellules immunitaires périphériques notamment les lymphocytes CD8+, au niveau de l'environnement tumoral, et (3) en activant les cellules neurogliales telles que les microglies et les astrocytes pour transformer le microenvironnement de la tumeur en environnement cytotoxique.

L'objectif de ce projet de stage est d'étudier le microenvironnement tumoral via des méthodologies en cytométrie en flux et par imagerie TEP (tomographie par émission de positons).

Ainsi le projet de stage est de comprendre l'impact du système immunitaire dans un microenvironnement tumoral perturbé par les ultrasons dans un modèle murin de gliome (GL261) orthotopique. Il s'agira ainsi d'étudier différents marqueurs du système immunitaire cérébral (astrocytes et microglies activées, soit pro ou antiinflammatoires) et du système immunitaire infiltrant au sein de la tumeur (CD8, CD4, Treg) au cours du temps par cytométrie de flux dans différentes conditions thérapeutiques (immunothérapie anti-PD-L1 seule et immunothérapie anti-PD-L1 combinée avec des ultrasons focalisées).

Dans ce cadre, il s'agira ensuite de valider la valeur prédictive de l'infiltration des lymphocytes CD8+ dans un modèle syngénique sur l'efficacité thérapeutique d'immunothérapie anti-PD-L1 combinée avec des ultrasons focalisés. La valeur prédictive de l'infiltration CD8+ reposera sur une stratégie couplant haute spécificité des anticorps monoclonaux ciblant CD8+ et imagerie TEP, stratégie appelée immunoTEP.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Institut Institut Necker Enfants Malades, INSERM U1151-CNRS UMR 8253,
Université Paris Cité, Faculté de Médecine Necker
Adresse complète : 160 rue de vaugirard 75015 Paris

Thématique de recherche : Immunologie, Biologie cellulaire, Inflammation, Autoimmunité

Ecole doctorale de rattachement : EDBioSPC862

Responsable de l'équipe : Bénédicte Manoury équipe « Réponse Immunitaire et Signaux de Danger »

N° de téléphone : 0140615382

Adresse électronique : benedicte.manoury@inserm.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Bénédicte Manoury

N° de téléphone : 0140615382

Adresse électronique : benedicte.manoury@inserm.fr

Titre du sujet : Régulation de STING et son impact dans l'inflammation et l'auto-immunité

Mots clefs : Immunité innée, STING, interféron de type I, cellules dendritiques, macrophages

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

STING (Stimulator of interferon genes) est un récepteur de l'immunité innée qui suite à la reconnaissance d'ADN cytosolique pathogène déclenche la production de cytokines pro inflammatoires et d'interféron de type I. Son activation anormale est associée à diverses maladies inflammatoire et auto-immunes. Ce projet consistera à étudier la régulation de STING dans deux types de cellules immunitaires, les macrophages et les cellules dendritiques chez la souris et l'homme.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Institut Institut Necker Enfants Malades, INSERM U1151-CNRS UMR 8253,
Université Paris Cité, Faculté de Médecine Necker
Adresse complète : 160 rue de vaugirard 75015 Paris

Thématique de recherche : Immunologie, Inflammation, Métabolisme

Ecole doctorale de rattachement : EDBioSPC862

Responsable des équipes : Bénédicte Manoury « Réponse Immunitaire et Signaux de Danger » et Nicolas Venteclef « Immunité et métabolisme du diabète »

N° de téléphone : 0140615382

Adresse électronique : benedicte.manoury@inserm.fr, nicolas.venteclef@inserm.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom des encadrants : Bénédicte Manoury et Nicolas Venteclef

N° de téléphone : 0140615382

Adresse électronique : benedicte.manoury@inserm.fr, nicolas.venteclef@inserm.fr

Titre du sujet : Le Rôle du récepteur Toll-like 9 dans le diabète de type II

Mots clefs : Immunité innée, TLR9, diabète de type 2, inflammation, macrophages

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Le diabète de type 2 (T2D) est une maladie inflammatoire qui détruit les cellules β du pancréas et conduit à une hyperglycémie et une production d'insuline insuffisante. Lors du T2D, il a été montré un rôle clé des macrophages des tissus adipeux et infiltrant le pancréas dans l'inflammation. Le récepteur Toll-like (TLR9) est un récepteur de l'immunité innée, exprimé par les macrophages et reconnaissant spécifiquement l'ADN de pathogènes. Son activation induit la production de cytokines pro inflammatoires. Ce projet consiste en l'étude du rôle du TLR9 exprimé par les macrophages dans le diabète de type 2

Proposition de stage M2 2022-203

Equipe:

Nicolas Manel, Institut Curie INSERM U932, 12 rue Lhomond, 75005 Paris

Titre:

Regulation of the cGAS-STING pathway in inflammation and immune defense

Résumé:

The ability of the cells to detect and respond to non-self and altered self is essential for host defense and survival. In mammals, the cGAS-STING pathway has emerged as a crucial mediator of intracellular DNA detection and innate immune defenses. cGAS detects the presence of DNA and produces the second messenger cGAMP, which binds to the intracellular receptor STING, resulting in activation of inflammatory signaling pathways. Activation of the cGAS-STING pathway is now recognized to play a major roles in a wide range of human conditions, including infections, cancer, inflammatory diseases and aging. Furthermore, key protein domains of cGAS and STING are conserved in evolution. cGAS-STING therefore represent a universal pathway of cellular defenses through life. It is therefore crucial to understand how the pathway is controlled.

Our lab has contributed to seminal studies in the cGAS-STING field, including mechanisms of intracellular viral detection (Immunity 2013, Science 2015, Science Immunology 2017, Cell 2018, Science Signaling 2021), the intracellular control of cGAS-STING (J Exp 2017, 2019, 2020), the regulation of nuclear cGAS (Cell Reports 2019, Cell 2021). Recently, we have identified novel putative regulators of cGAS and STING through genetic and proteomic screens. These regulators have potential significance to viral infections, inflammatory diseases, cancer immunity and aging. The M2 student will have the possibility to study a selection of these new factors, in collaboration with more senior scientists in the team.

Our lab employs all the state-of-the art techniques in molecular biology, cellular biology, imaging, proteomics, cytometry, genomics, mouse models and human primary cells. We are located at Institut Curie, a leading and internationally recognized research center at the heart of Paris, in a highly collaborative and multidisciplinary team and immunology department. A previous lab experience of molecular plasmid cloning is strongly desirable for this M2 project.

Lab website: <https://sites.google.com/view/nicolasmanellab>

Principales références

For complete list, see: <https://sites.google.com/view/nicolasmanellab>

1. Guilherme P.F. Nader, Sonia Agüera-Gonzalez, Fiona Routet, Matthieu Gratia, Mathieu Maurin, Valeria Cancila, Clotilde Cadart, Andrea Palamidessi, Rodrigo Nalio Ramos, Mabel San Roman, Matteo Gentili, Ayako Yamada, Alice Williard, Catalina Lodillinsky, Emilie Lagoutte, Catherine Villard, Jean-Louis Viovy, Claudio Tripodo, Jérôme Galon, Giorgio Scita, Nicolas Manel*, Philippe Chavrier*, Matthieu Piel*. Compromised nuclear envelope integrity leads to TREX1-dependent DNA damage and tumor cell invasion. **Cell**. 2021. doi: [10.1016/j.cell.2021.08.035](https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.08.035)
2. Marius Döring, Kevin De Azevedo, Guillermo Blanco-Rodriguez, Francesca Nadalin, Takeshi Satoh, Matteo Gentili, Xavier Lahaye, Nilushi S. De Silva, Cécile Conrad, Mabel Jouve, Mireille Centlivre, Yves Lévy, and Nicolas Manel. **Science Signaling**. 2021. doi: [10.1126/scisignal.abd9720](https://doi.org/10.1126/scisignal.abd9720)
3. Matthieu Gratia, Mathieu Paul Rodero, Cecile Conrad, Elias Bou Samra, Mathieu Maurin, Gillian I Rice, Darragh Duffy, Patrick Revy, Florence Petit, Russell C Dale, Yanick J Crow*, Mounira Amor-Gueret*, Nicolas Manel*. Bloom syndrome protein restrains innate immune

sensing of micronuclei by cGAS. *The Journal of Experimental Medicine*. 2019. doi: [10.1084/jem.20181329](https://doi.org/10.1084/jem.20181329)

4. Matteo Gentili, Xavier Lahaye, Francesca Nadalin, Guilherme F. P. Nader, Emilia Puig Lombardi, Solène Herve, Nilushi S. De Silva, Derek C Rookhuizen, Elina Zueva, Christel Goudot, Mathieu Maurin, Aurore Bochnakian, Sebastian Amigorena, Matthieu Piel, Daniele Fachinetti, Arturo Londoño-Vallejo, Nicolas Manel. The N-terminal domain of cGAS determines preferential association with centromeric DNA and innate immune activation in the nucleus. *Cell Reports*. 2019. doi: [10.1016/j.celrep.2019.01.105](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.105)
5. Xavier Lahaye, Matteo Gentili, Aymeric Silvin, Cécile Conrad, Léa Picard, Mabel Jouve, Elina Zueva, Mathieu Maurin, Francesca Nadalin, Gavin J. Knott, Baoyu Zhao, Fenglei Du, Marlène Rio, Jeanne Amiel, Archa H. Fox, Pingwei Li, Lucie Etienne, Charles S. Bond, Laurence Colleaux, Nicolas Manel. NONO Detects the Nuclear HIV Capsid to Promote cGAS-Mediated Innate Immune Activation. *Cell*. 2018. doi: [10.1016/j.cell.2018.08.062](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.062)
6. Silvin, A., Yu, C., Lahaye, X., Imperatore, F., Brault, J., Cardinaud, S., Becker, C., Kwan, W., Conrad, C., Maurin, M., Goudot, C., Marques-Ladeira, S., Wang, Y., Pascual, V., Anguiano, E., Albrecht, R., Iannacone, M., García-Sastre, A., Goud, B., Dalod, M., Moris, A., Merad, M., Palucka, A.K.*, Manel, N.* (2017) Constitutive resistance to viral infection in human CD141+ dendritic cells. *Science Immunology*. 2017. doi: [10.1126/sciimmunol.aai8071](https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aai8071)
7. S. Cerboni, N. Jeremiah, M. Gentili, U. Gehrmann, C. Conrad, MC. Stolzenberg, C. Picard, B. Neven, A. Fischer, S. Amigorena, F. Rieux-Laucat*, N. Manel*. Intrinsic anti-proliferative activity of the innate sensor STING in T lymphocytes. *The Journal of Experimental Medicine*. 2017. 214:1769. DOI: [10.1084/jem.20161674](https://doi.org/10.1084/jem.20161674)
8. Matteo Gentili, Joanna Kowal, Mercedes Tkach, Takeshi Satoh, Xavier Lahaye, Cécile Conrad, Marilyn Boyron, Bérangère Lombard, Sylvère Durand, Guido Kroemer, Damarys Loew, Marc Dalod, Clotilde Théry, Nicolas Manel. Transmission of Innate Immune Signaling by Packaging of cGAMP in Viral Particles. *Science*. 2015, 349:1232. doi: [10.1126/science.aab3628](https://doi.org/10.1126/science.aab3628)
9. Xavier Lahaye, Takeshi Satoh, Matteo Gentili, Silvia Cerboni, Cécile Conrad, Ilse Hurbain, Ahmed El Marjou, Christine Lacabartz, Jean-Daniel Lelièvre, Nicolas Manel. The Capsids of HIV-1 and HIV-2 Determine Immune Detection of the Viral cDNA by the Innate Sensor cGAS in Dendritic Cells. *Immunity*. 2013, 39:1132. DOI: [10.1016/j.immuni.2013.11.002](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.11.002)

Proposition de sujet de Master 2

Unité de Recherche :

Institut Imagine- INSERM U1163

Directeur : Stanislas Lyonnet

Renseignements relatifs à l'Equipe et à l'encadrant

Équipe: Laboratory of cellular and molecular mechanisms of hematological disorders and therapeutic implications

L'encadrant (Responsable Groupe Mastocytose): Leïla MAOUCHE CHRETIEN

Téléphone : 06 88 80 98 46

Courriel : leila.maouche@inserm.fr

Project

Deregulation of *FAS* transcripts in the mastocytosis development.

Around 15% of hereditary diseases and cancers involve a deregulation of splicing, and up to 95% of human genes undergo alternative splicing generating distinct protein isoforms with distinct functions.

Topic of the project: We are interested in mastocytosis, a rare and heterogeneous disease characterized by an accumulation of abnormal mast cells in one or several tissues. The disease can be exclusively cutaneous, systemic indolent or systemic aggressive such as mast cell leukemia. Affected cells (mastocytes) belong to the innate immune system and undergo repeated degranulation leading to severe organ dysfunctions. In 85% of patients, a somatic mutation in *KIT* gene is detected in mast cells, however deregulated *KIT* pathway is not sufficient to induce mastocytosis and can not explain the heterogeneity of the pathology. Other events are required for disease onset, and we have recently found that *KIT* mutation cooperates with the germline mutation of *GLI3* to develop mastocytosis in two families (Laura Polivka et al, Blood 2021)

Using similar genetic approaches, we identified patients with mastocytosis carrying both a somatic *KIT* *D816V* mutation and a germline mutation in *FAS*. Corroborating this initial observation, we have also identified mastocytosis patients of varying severity who express varying amounts of *FAS* protein although they do not carry mutations in *FAS*. These preliminary data suggest that a deregulation of *FAS* expression may be a determinant of mastocytosis.

Aim of the Master 2's project: To study the role of the *FAS* pathway in mastocytosis. *FAS* and *FAS* ligand belong to the TNF family and their interaction leads to apoptosis. Mutations in *FAS* impair *FAS*-mediated apoptosis. We used targeted long-read sequencing to compare the expression of *FAS* transcripts in mast cells of patients presenting mastocytosis and carrying, or not, mutations in *FAS* gene. Our data reveal a more complex expression of *FAS* than currently described, with 180 alternative transcripts while only 40 are annotated in the databases. Moreover, we also found differential allelic expression between patients and healthy individual, suggesting dysregulation of *FAS* expression in mastocytosis's patients.

We seek now to investigate the effect of alternatively spliced transcripts in mast cells to understand their effect in mastocytosis development or disease severity, in presence or absence of *KIT* mutations. To do so, we will analyse the function of novel *FAS* isoforms, by gene transfer in normal cells and investigate their contribution to cell proliferation and apoptosis.

During the internship, the Master 2 student will learn several techniques of cell biology, biochemistry and molecular biology such as: Cell culture, proliferation kinetics, apoptosis assays, gene transfer, FACS and Western blot.

Blood : DOI: 10.1182/blood.2020010207

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : IMVA-HB 1184

Adresse complète :

CEA

18, route du Panorama

92265 Fontenay aux Roses

Thématique de recherche : Réponses immunitaires des maladies infectieuses

Ecole doctorale de rattachement : ED569

Responsable de l'équipe : Olivier LAMBOTTE

N° de téléphone :

Adresse électronique : olivier.lambotte@aphp.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Benoit FAVIER

N° de téléphone : 01 46 54 85 50

Adresse électronique : benoit.favier@cea.fr

Titre du sujet : Caractérisation d'un nouveau mécanisme d'activation des réponses immunitaires innées par le récepteur activateur LILRA2

Mots clefs : Réponses immunitaires myéloïdes, Infections bactériennes, récepteur activateur, Immunothérapie

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Les récepteurs de la famille des LILRs jouent un rôle important dans la régulation des réponses immunitaires modulant la progression des infections et des tumeurs. A ce titre, il a été récemment montré que le récepteur activateur LILRA2 joue un rôle important dans les

réponses immunitaires contre certaines bactéries et permettrait ainsi de juguler la progression des infections par ces pathogènes.

L'objectif de ce projet vise à mieux caractériser le rôle du récepteur LILRA2 dans l'activation des réponses immunitaires induites par les monocytes et les neutrophiles. A cet égard, notre laboratoire a récemment pu confirmer l'interaction de LILRA2 avec un nouveau ligand de l'hôte induit lors d'infections bactériennes. Ces travaux pourraient rapidement trouver des applications dans les stratégies thérapeutiques visant à contrer la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques. Ces études seront réalisées in vitro sur des monocytes et des neutrophiles (phagocytose, production de cytokines et ROS) principalement par cytométrie en flux. Par la suite, ces travaux pourront être transposées dans des modèles pré-cliniques. Une expérience antérieure en laboratoire de recherche serait un atout.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Institut de Chimie Physique, UMR8000, Equipe CPSysBio

Adresse complète : Université Paris Saclay, Bâtiment 350, Rue Jean Perrin, 91405 Orsay

Thématique de recherche : Signalisation dans les phagocytes

Ecole doctorale de rattachement : Biosigne

Responsable de l'équipe : Pr. O. Nüsse

N° de téléphone : 0169157644

Adresse électronique : oliver.nusse@universite-paris-saclay.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Sophie Dupré

N° de téléphone : 0169156861

Adresse électronique : sophie.dupre@universite-paris-saclay.fr

Titre du sujet : Interactions neutrophiles-adénovirus et production de médiateurs de l'inflammation.

Mots clefs : phagocytose- cytokine-signalisation

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Les neutrophiles sont les premières cellules à être recrutées au niveau du site d'infection où elles phagocytent les agents pathogènes. Si leur rôle est bien connu dans la cadre des infections fongiques et bactériennes, il est cependant moins clair dans les infections virales. Nous nous intéressons à mieux caractériser les interactions neutrophile-adénovirus en collaboration avec

l'équipe du Pr. K.Benihoud (Metsy, UMR9018, IGR) qui étudie la capacité des adénovirus humains modifiés à induire des réponses immunitaires. Nous avons mis en évidence que la capture/phagocytose des adénovirus par les neutrophiles était suivie de la production de cytokines et la mort cellulaire des neutrophiles. L'objectif du stage est (1) de mieux caractériser *in vitro* la production de médiateurs de l'inflammation par les neutrophiles suite à la capture des adénovirus (2) et de rechercher les voies de signalisation mises en jeu dans cette production.



Aix*Marseille
université



Team: Immunosurveillance of the Central Nervous System
Group leader: Rejane RUA
Centre d'Immunologie Marseille-Luminy
163 avenue de Luminy 13288 Marseille Cedex9
Mail: rua@ciml.univ-mrs.fr
Phone: +33 6 67 80 04 91

M2 INTERNSHIP PROJECT

Title : Influence of early-life infection on neurocognitive deficits

The central nervous system is protected from the rest of the body by a tissue called the meninges, which harbors diverse immune populations, such as macrophages. In recent years, studies on meningeal immunity have uncovered revolutionary roles of those cells on neurocognition and neuroinflammation (Rua et al, 2019; Kwang, Rua et al., 2017). Because of their localization at the interface between the brain and the periphery, we hypothesize that meningeal macrophages can relay and amplify inflammation to the brain, leading to long-term neurological disorders. Such disorders are seen for instance after congenital infection with cytomegalovirus, in both humans and mice.

The aim of this internship will be to study the role of meningeal macrophages on cognition, in neonatal mice with perinatal inflammation (e.g. cytomegalovirus infection). Using innovative techniques such as spectral immunohistochemistry, spectral flow cytometry, and intravital imaging, we will investigate the changes occurring in the brains and meninges of these mice during infection, with or without macrophage manipulation. In parallel, we will perform behavioral tests to study neurological deficits.

This study should allow a better understanding of the immune and virological parameters involved in cognitive deficits and might pave the ground to target meningeal macrophages in the clinic.

References :

1. Rua, R. *et al.* Infection drives meningeal engraftment by inflammatory monocytes that impairs CNS immunity. *Nat Immunol* **20**, 407–419 (2019).
2. Kwong, B. *et al.* T-bet-dependent NKp46+ innate lymphoid cells regulate the onset of TH17-induced neuroinflammation. *Nat Immunol* **18**, 1117–1127 (2017).



Team: **Immunosurveillance of the Central Nervous System**
Group leader: Rejane RUA
Centre d'Immunologie Marseille-Luminy
163 avenue de Luminy 13288 Marseille Cedex9
Mail: rua@ciml.univ-mrs.fr
Phone: +33 6 67 80 04 91

Title : Understanding the physiological role of meningeal macrophages on neurogenesis

Project description

The meninges represent a tissue enveloping the brain. Recent data, including from our team, revealed that they contain a large panel of resident immune cells that can have a detrimental role in neuroinflammation (1,2). On the other hand, meningeal immune cells can also have a beneficial role in brain functions and promote social and cognitive behavior in the adult (3). Whether this positive action on the brain also occurs in early-life and whether it can help brain development and growth is unknown. Interestingly, the meninges and their resident immune cells (especially macrophages) penetrate the brain parenchyma between substructures, including the hippocampus which is an important neurogenic niche. In this line, **the objective of this M2 project is to investigate whether meningeal macrophages could influence developmental neurogenesis**. We hypothesize that meningeal macrophages could act on developmental neurogenesis through the liberation of specific factors. To address this question, we will combine multiple chemical and genetic innovative models to deplete macrophages, and analyze neurogenic output with RT-qPCR, immunohistochemistry and an original *in vitro* approaches of meningeal explant co-culture with neurospheres developed in the team. If time allows, we will also perform behavioral experiments in macrophage-depleted mice.

Selection of recent publications of the team related to the project

- (1) Rua R, et al. Infection drives meningeal engraftment by inflammatory monocytes that impairs CNS immunity. Nat Immunol. 2019

- (2) Kwang and Rua, et al. T-bet-dependent NKp46 + innate lymphoid cells regulate the onset of T H 17-induced neuroinflammation, 2017, Nature Immunology
- (3) Herz J, et al. GABAergic neuronal IL-4R mediates T cell effect on memory. Neuron. 2021

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Inserm U1015 Immunologie des tumeurs et immunothérapie contre le cancer
Adresse complète : Institut Gustave Roussy Bâtiment de médecine moléculaire 114 rue
Edouard Vaillant, 94800 Villejuif, France

Thématique de recherche : Immune tumour microenvironment

Ecole doctorale de rattachement : CBMS

Responsable de l'équipe : Florent Ginhoux

N° de téléphone : 0142115528

Adresse électronique : ginhouxflorent@gmail.com

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Charles-Antoine DUTERTRE

N° de téléphone : 06 13 59 08 62

Adresse électronique : cadutertre@gmail.com

Titre du sujet : Unravelling the mechanisms leading to the differentiation, the tumour nest localisation and the function of pro-tumoral CD207+ dendritic cells

Mots clefs : Tumour microenvironment, dendritic cells, resident memory T cells (T_{RM})

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

The tumour microenvironment comprises tumour, stromal and immune cells among which, intra-tumoral cytotoxic CD8⁺ T cells (CTL) is associated with a good prognosis in most cancers. Among intratumoral CTL, tissue-resident memory T (T_{RM}) cells are transcriptionally, phenotypically and functionally distinct from effector and central memory T cells, with long-lived memory property, rapid effector function and tissue-specific retention property. The presence of T_{RM} cells has been reported in most cancers, including liver, pancreas, stomach and

head & neck cancers. Among tumour-infiltrating immune cells, major cells detected are mononuclear phagocytes (MNP) comprising dendritic cells (DC) and monocyte/macrophages (MoMac), which are key regulators of the anti-tumour T cell response. DC are professional antigen presenting cells (APC) and are the only cells able to efficiently prime naïve T cells. While plasmacytoid DC (pDC) are poor APC, pre-DC-derived conventional DC (cDC) comprise cDC1 and CD1c⁺ cDC that have recently been described as containing ontogenically-distinct subsets of CD5⁺ cDC2 and CD5⁻CD14^{+/-} DC3 (Dutertre *et al.*, Immunity 2021). While the infiltration of MoMac within tumours is most often associated with poor prognosis, cDC are unfortunately often excluded from the tumour. Following our multi-omic analysis of tumour MoMac (Mulder *et al.*, Immunity 2021), we integrated 38,293 DC from 13 tissues across 40 datasets to generate a DC single-cell RNA compendium (DC-VERSE, Mulder *et al.*, in revision). We found that all of the 11 neoplastic tissues included in the study contained CD207⁺ cDC2/DC3 that: (1) accumulate inside the tumour where they were the most proliferative DC; (2) were detected embedded within tumour nests while T and B cells were mainly detected within the tumour stroma of lung adenocarcinomas; (3) inversely correlate with T-cell clonal expansion and the frequency of CD8⁺ resident memory T-cells (T_{RM}, that are classically defined as co-expressing CD69 and CD103); (4) positively correlate with terminally differentiated senescent and hypofunctional CD8⁺ T_{EMRA} cells; (5) was associated with cancer-related deaths in all the seven TCGA cancer datasets analysed.

Altogether, this study led us to hypothesise that blood cDC2 could enter the tumour bed and differentiate into CD207⁺ cDC2/DC3 to exert potential immunosuppressive functions.

Master 2 project outline

The proposed project aims at studying tumour-associated CD207⁺ cDC2/DC3 to define:

- (1) mechanisms by which they differentiate from cDC2/DC3;
- (2) their capacity to interact with and shape CD8⁺ T cells, including tumour antigen-specific CD8⁺ T cells;
- (3) their putative involvement in the inhibition of antigen-specific intratumoral CTL expansion (as suggested by their inverse correlation with tumour T cells clonality);
- (4) the mechanism and impact of their localisation specifically within the tumour nest niches within human carcinomas.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° :

Centre IMVA-HB / UMR-S 1184

(Immunologie des maladies virales, autoimmunes, hématologiques et bactériennes)

Adresse complète :

Faculté de médecine Du Kremlin-Bicêtre

63 rue Gabriel Péri

94276 Le Kremlin-Bicêtre

Thématique de recherche : Immunologie, Infectiologie

Ecole doctorale de rattachement : ED Biosigne / ED569

Responsable de l'équipe :

Pr Olivier Lambotte

N° de téléphone :

0149596759

Adresse électronique :

olivier.lambotte@aphp.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant :

Christine Bourgeois

N° de téléphone :

0149596759

Adresse électronique :

christine.bourgeois@u-psud.fr

Titre du sujet :

Potentiel immunosuppresseur du TA

Etude sur les populations lymphocytaires et macrophagiques

Mots clefs :

Immunologie, lymphocytes T, macrophages, tissu adipeux

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Le tissu adipeux (TA) est un organe métabolique qui est également doué de fonctions immunologiques. La contribution des cellules immunitaires à l'activité métabolique du TA est relativement bien décrite dans les contextes métaboliques physiologiques (macrophages participant à l'élimination des adipocytes peu fonctionnels, Ly T CD4 Th2 et régulateurs participant à l'homéostasie métabolique) ou pathologiques (macrophages exerçant une activité pro-inflammatoire, recrutement CD8 associé à l'obésité). Les fonctions métaboliques du tissu adipeux requièrent un environnement peu inflammatoire et l'environnement adipeux est classiquement décrit comme immunosuppresseur. Les mécanismes responsables de cette immunosuppression restent mal compris et semblent inclure des facteurs solubles (métabolites (lipide, AMP, glucose), hormones (adiponectine), cytokines), des facteurs liés à la matrice extracellulaire (hypoxie), des cellules aux propriétés immunosuppressives qu'elles soient immunitaires (CD4 T régulatrices, Th2) ou non (cellules souches mésenchymateuses du TA).

L'objectif du projet est d'évaluer l'impact des facteurs solubles produit par le tissu adipeux sur deux populations de cellules immunitaires présentes en proportion importante dans le tissu adipeux : les macrophages et les lymphocytes T.

Détails du projet

Le projet comprend

(i) la collecte de milieu conditionné par le tissu adipeux entier, la fraction adipocytaire ou la SVF, Cette partie comprend une mise en culture de 24h de fragments du tissu adipeux entier, la collecte et l'aliquotage des surnageants, afin de combiner une analyse du potentiel immunosuppresseur de cette fraction soluble et une analyse métabolomique.

(ii) l'étude des modifications fonctionnelles induites les facteurs solubles produits par le tissu adipeux sur les cellules immunitaires.

Pour ce faire, des macrophages générés à partir de monocytes du sang et des lymphocytes T CD4 et CD8 isolés du sang circulant seront mis en culture en présence ou absence de milieu conditionné par le tissu adipeux. Différentes conditions de cultures seront considérées : pour les lymphocytes T, stimulation par anti-CD3 anti-CD28 ou non ; pour les macrophages, stimulation LPS ou par des acides gras saturés. Le profil de sécrétion de cytokines, le phénotype d'activation, de différenciation Th2/Th1, d'épuisement/sénescence des cellules immunitaires sera évalué.

(iii) l'impact de certains métabolites lipidiques et de certaines cytokines ou hormones sera plus spécifiquement évalué : impact de l'acide arachidonique, de la prostaglandine E2, du TGF- β , de l'adiponectine.

Ce projet sera réalisé sur des prélèvements de tissus adipeux collectés chez l'homme et repose sur des techniques de dissociation enzymatique, culture cellulaire et cytométrie de flux principalement.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : INSERM U1016, CNRS UMR 8104, Université de Paris-Equipe Biologie des phagocytes, Infection & Immunité

Adresse complète : Institut Cochin, Bât Méchain 3ème étage porte 322. 22 rue Méchain, 75014 Paris

Thématique de recherche : Biologie des phagocytes, Infection & Immunité

Ecole doctorale de rattachement : Bio-SPC

Responsable de l'équipe : Dr. Florence NIEDERGANG

N° de téléphone : 01 40 51 64 21

Adresse électronique : florence.niedergang@inserm.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Dr. Fatah OUAAZ

N° de téléphone : 01 40 51 64 21

Adresse électronique : fatah.ouaaz@inserm.fr

Titre du sujet : Regulation and role of dendritic cell subsets in antigen transfer and activation of B lymphocytes

Mots clefs : 1- Dendritic cell, 2- B lymphocyte, 3- antigen, 4- regurgitation, 5- NF-κB

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Dendritic cells (DCs) are professional antigen-presenting cells, which sample **antigens** (Ags) in the periphery and migrate to the lymph node (LN) where they activate T cells and potentially **B cells**. Previously, we have reported that human DCs were able to release native Ag internalized by macropinocytosis from the late endosomes in the extracellular medium by a process that was named "**regurgitation**". Recently, we reported that murine dendritic cells are important peripheral carriers of Ag to the LN B-cell zone and also potent activators of B cells both *in vivo* and *in vitro*. Importantly, we highlighted that Ag released by DC regurgitation is sufficient to efficiently induce early B-cell activation through the nuclear accumulation of the transcription factor NF-κB/cRel. However, the regulation of DC regurgitation and the respective role of the LN-resident DC subsets in Ag transfer and B-cell activation remain poorly investigated.

Based on these results, the M2 candidate will now explore: 1) The role of the LN-resident DC subsets (cDC1/CD8α⁺, cDC2/CD11b⁺) in the Ag transfer and B-cell activation *in vivo* and *in vitro*; 2) The mechanisms

underlying the regulation and the control of Ag regurgitation and B-cell activation by DCs by investigating the role of the NF- κ B pathway and chemokines.

The M2 candidate will use specific anti-HEL transgenic B cells (HEL for Hen Egg Lysozyme) and DCs (derived-bone marrow-derived DCs and DC subsets purified ex vivo from mouse spleen) to explore the modalities of Ag transfer by DCs and their impact on B activation in vivo and in vitro by flow cytometry and confocal microscopy. The activation of NF- κ B will be analyzed by both western blot and confocal microscopy. All these experimental approaches are already developed and available in the laboratory.

We expect to provide new insights into the fine regulation of Ag transfer and direct B-cell activation by DC subsets *in vivo* and also new approaches for NF- κ B targeting and DC-based vaccination to elicit protective humoral immunity.

Publications related to the M2 project

1- El-Barby H, Capita M,....., Niedergang F and Ouaz F (2020). Extracellular release of antigen by dendritic cell regurgitation promotes B-cell activation through NF- κ B/cRel. **J Immunol**, 205, 608-618.

2- Le Roux D, Le Bon A,....., Bismuth G, Niedergang F (2012). Antigen stored in dendritic cells after macropinocytosis is released unprocessed from late endosomes to target B cells. **Blood**. 19, 95-105.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR8104, Equipe « Signalisation des cellules immunes et infection rétrovirale »

Adresse complète : 22 rue Méchain, 75014 Paris

Thématique de recherche : Immunologie

Ecole doctorale de rattachement : BioSPC

Responsable de l'équipe : Clotilde Randriamampita

N° de téléphone : 0140516560

Adresse électronique : c.randriamampita@inserm.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Jérôme Delon

N° de téléphone : 0140516640

Adresse électronique : jerome.delon@inserm.fr

Titre du sujet : Impact de mutations génétiques des RHO GTPases identifiées chez des patients atteints de déficits immunitaires

Mots clefs : immunité, inflammation, signalisation, cytosquelette, RHO GTPases, mutations, maladies rares, imagerie

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Small GTPases of the Rho family, their regulators and their effectors assemble molecular platforms at the surface of membranes that control multiple signaling pathways. These signaling platforms are involved in various physiological functions and processes in the cell, such as the regulation of the cytoskeleton, adhesion, migration or the cell cycle. Mirroring these major functions, their deregulations can be at the origin of human pathologies such as immune

deficiencies and inflammatory syndromes. However, how molecular defects in Rho pathways result in clinical symptoms is extremely complex and has remained poorly understood.

In this project, we identified patients with missense mutations affecting the small GTPase CDC42, as well as $G\alpha_{13}$, a subunit of a heterotrimeric G protein that recruits a Rho exchange factor, all of which result in a spectrum of disabling skin diseases, often with inflammatory and immune symptoms. **These rare diseases provide a unique opportunity to unravel the inner workings of Rho GTPases molecular circuits from the molecule to the patient.** With this aim, we will use complementary expertise, including biochemistry, molecular and cell biology, and imaging. We will investigate the mutational landscape of the Rho pathways in a large and unique cohort of patients, identify the biochemical and cellular defects associated with the mutations, and determine the impact of the mutations on Rho GTPase functions. We will particularly focus our studies to understand how the cytoskeleton can impact on the inflammatory microenvironment.

The project should thus impact fundamental and translational research in several ways.

Publications récentes de l'équipe relatives au projet de stage

- El Masri R and Delon J. (2021) RHO GTPases: from new partners to complex immune syndromes. *Nature Reviews Immunology*. Aug 21 (8):499-513.
- Simao M., Régnier F., Taheraly S., Fraisse A., Tacine R., Fraudeau M., Benabid A., Feuillet V., Lambert M., Delon J. & Randriamampita C. (2021) cAMP bursts control T cell directionality by actin cytoskeleton remodeling. *Front. Cell Dev. Biol.*, May 20;9:633099.
- *Bekhouche B, *Tourville A, Ravichandran Y, Tacine R, Abrami L, Dussiot M, Khau-Dancasius A, Boccara O, Khirat M, Mangeney M, Dingli F, Loew D, Boëda B, Jordan P, Molina TJ, Bellon N, Fraitag S, Hadj-Rabia S, Blanche S, Puel A, Etienne-Manneville S, van der Goot FG, Cherfils J, Hermine O, Casanova JL, Bodemer C, Smahi A, Delon J. (2020) A toxic palmitoylation of Cdc42 enhances NF- κ B signaling and drives a severe autoinflammatory syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020 Apr 10:S0091-6749(20)30426-7.
- Megrelis, L., El Ghouli, E., Moalli, F., Versapuech, M., Cassim, S., Ruef, N., Stein, J.V., Mangeney, M. and Delon J. (2018) Fam65b phosphorylation relieves tonic RhoA inhibition during T cell migration. *Front. Immunol.* 9:2001
- Froehlich, J., Versapuech, M., Megrelis, L., Largeteau, Q., Meunier, S., Tanchot, C., Bismuth, G., *Delon, J., *Mangeney, M. (2016). FAM65B controls the proliferation of transformed and primary T cells. *Oncotarget*. 7: 63215-63225.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Institut de Radiobiologie Cellulaire et Moléculaire, CEA/LRTS, INSERM U1274

Adresse complète : Bat. 5, 18 route de Panorama, 92260 Fontenay aux Roses

Thématique de recherche : réponse immunitaire anti-tumorale radio-induite

Ecole doctorale de rattachement : Cancérologie : Biologie, Médecine, Santé (CBMS)

Responsable de l'équipe : Germain Rousselet

N° de téléphone : 01 46 54 70 41

Adresse électronique : germain.rousselet@cea.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Germain Rousselet

N° de téléphone : 01 46 54 70 41

Adresse électronique : germain.rousselet@cea.fr

Titre du sujet : Réponse immunitaire anti-tumorale radio-induite : rôle de TRIM33

Mots clefs : IFN- β , cellules myéloïdes, TRIM33, radiothérapie

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

Nous avons montré que la radiothérapie était plus efficace dans des souris portant une délétion myéloïde de *Trim33*. En effet, TRIM33 contrôle l'expression myéloïde de l'interféron bêta, et son absence favorise l'induction de l'IFN- β après irradiation, et donc la réponse immunitaire anti-tumorale radio-induite. Nous proposons d'analyser l'infiltrat immunitaire des tumeurs irradiées par des méthodes de cytométrie spectrale, d'immunohistochimie, et de RT-PCR, pour comprendre les cellules immunitaires impliquées et les mécanismes mis en jeu.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil

Intitulé et n° : Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Biotechnologie

Adresse complète : CEA Saclay - 91191 Gif-sur-Yvette cedex

Thématique de recherche : Immunogénicité des protéines thérapeutiques

Ecole doctorale de rattachement : ED569 Innovation Thérapeutique : du Fondamental à l'Appliqué (ITFA)

Responsable de l'équipe : Bernard Maillère

N° de téléphone : 01 69 08 94 47

Adresse électronique : bernard.maillere@cea.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Hua Stéphane

N° de téléphone : 01 69 08 33 11

Adresse électronique : stephane.hua@cea.fr

Titre du sujet : Clonage et expression fonctionnelle de récepteurs T spécifiques d'antigènes

Mots clefs : Lymphocytes T CD4, TCR, NGS, cytométrie en flux, CRISPR Cas9/rétrovirus

Résumé du sujet (en quelques lignes) :

De nombreuses maladies sont actuellement traitées à l'aide de protéines thérapeutiques. Ces molécules présentent l'avantage d'avoir une très grande spécificité pour leur cible et d'induire une faible toxicité. Toutefois, elles peuvent induire une réponse immunitaire qu'on appelle communément réponse anticorps anti-médicament (ADA pour anti-drug antibody) induite par les lymphocytes B (LB).

Les lymphocytes T CD4 (LT CD4) peuvent également être impliqués dans cette réponse ADA en interagissant avec les LB et en induisant à la fois des événements d'hypermutations

somatiques et de commutation de classe isotypique sur les LB. La présence de LT CD4 spécifiques d'un épitope d'une protéine thérapeutique peut donc conduire à une réponse ADA lors de l'injection de cette protéine dans l'organisme.

Dans ce projet, le/la stagiaire en M2 aura pour mission d'étudier les lymphocytes T CD4 spécifiques d'un antigène modèle afin :

- D'identifier et séquencer le TCR des LT CD4 spécifiques en utilisant des méthodes de single cell TCRseq et de Next Generation Sequencing (NGS)
- D'analyser les séquences de TCR par bioinformatique (Python/R)
- De développer un modèle d'expression des TCR spécifiques sur une lignée cellulaire de lymphocytes T en utilisant des technologies de thérapies géniques (rétrovirus/CRISPR Cas9)
- D'étudier les caractéristiques du répertoire du TCR en analysant et comparant l'affinité des différents TCR face à leur épitope par cytométrie de flux (BD FACS)

Le/la candidat(e) devra être motivé(e) pour travailler à la fois en biologie cellulaire mais aussi en biologie moléculaire et devra posséder une formation initiale en immunologie.

A terme, les résultats obtenus permettront de déterminer l'immunogénicité d'une protéine thérapeutique mais également d'identifier les épitopes responsables des réponses ADA et donc d'envisager une diminution de son immunogénicité sans altérer son efficacité.

**Mention de Master Biologie Santé
Université Paris Saclay & Université Paris Est Créteil**

Master 2 Parcours Immunologie

Fiche de proposition de sujet de stage pour l'année 2022-2023

(Remplir les champs grisés puis retourner la fiche à geraldine.schlecht-louf@universite-paris-saclay.fr)

I. Renseignements concernant le laboratoire d'accueil

Laboratoire d'accueil 1

Intitulé et n° : Center for Immunology of Viral, Auto-immune, Hematological and Bacterial diseases. Inserm UMR1184- Équipe Laboratoire des Maladies Auto-immunes

Adresse complète : 63 Rue Gabriel Péri, Faculté de Médecine, Université Paris-Saclay, 94270 Le Kremlin-Bicêtre

Laboratoire d'accueil 2

Intitulé et n° : Institut Necker-Enfants Malades (INEM); Inserm U1151 - Voies de l'immunité innée et adaptative dans l'autoimmunité et l'autoinflammation

Adresse complète : 156 Rue de Vaugirard, Faculté de médecine Paris-Descartes, Site Necker, 75730 PARIS CEDEX 15

Thématique de recherche : Epitranscriptomique, maladies auto-immunes, Sjogren's Syndrome

Ecole doctorale de rattachement : ED 569 - INNOVATION THÉRAPEUTIQUE: DUFONDAMENTAL À L'APPLIQUÉ –Université Paris-Saclay

Responsable de l'équipe 1 : Pr. Xavier Mariette
Adresse électronique : Xavier.mariette@aphp.fr

Responsable de l'équipe 2 : Dr. Julien Diana
N° de téléphone : +33 (0)1 40 61 53 85
Adresse électronique : Julien.diana@inserm.fr

II. Renseignements concernant le sujet proposé pour un stage de M2 (6 mois)

Nom de l'encadrant : Dr. Rami Bechara et Dr. Julien Diana

N° de téléphone : 06 51 76 67 16

Adresse électronique : rami.bechara@universite-paris-saclay.fr

Titre du sujet : DETERMINE THE CONTRIBUTIONS OF RNA M6A METHYLATION TO SALIVARY GLAND EPITHELIAL CELL DAMAGE IN MICE MODELS OF SJOGREN'S SYNDROME.

Mots clefs : epitranscriptomic, RNA methylation, Sjogren's syndrome

Résumé du sujet (en quelques lignes) : Sjögren's syndrome (SjS) is an autoimmune disease characterized by lymphocytic infiltration of the exocrine glands, particularly the salivary and lacrimal glands (Nocturne & Mariette, 2013). The current therapies for SjS are often used on the basis of experience rather than evidence (Seror, Nocturne, & Mariette, 2021). Our team has demonstrated that salivary gland epithelial cells (SGEC) are not a passive victim in this disease and are actively involved in SjS (Riviere et al., 2021; Verstappen, Pringle, Bootsma, & Kroese, 2021).

Recently, several immune mRNAs were shown to carry a methylation at the N6 position of adenosine, called m⁶A. m⁶A is added to specific RNA by methyltransferases termed 'writers', which can be reversed by 'erasers'. Diverse 'readers' bind to m⁶A and impact RNA stabilization/translation. Targeting the interaction between RNA binding proteins (RBPs) and their targets has potential to be an effective strategy to correct gene expression associated with disease (He & He, 2021; Liu & Pan, 2016; Zaccara, Ries, & Jaffrey, 2019). Hence, epitranscriptome-targeting drugs may hold promise given the ability to target the enzymes that write or erase these modifications (He & He, 2021; Yankova et al., 2021). However, the immunological ramifications of these m⁶A marks have been largely overlooked, and to date nothing is known regarding the role of m⁶A machinery in SjS.

Preliminary data from the lab showed a significant increase in the m⁶A writer *METTL14* in sorted SGEC from SjS vs controls. Although none of the existing mouse models of SjS recapitulate all SjS complexity, they have extensively elucidated the pathogenesis of the human disease (Gao, Chen, Zhang, Yu, & Zheng, 2020). Here, we will analyze the role of m⁶A pathway in spontaneous and inducible models of SjS. **TASK 1 – Investigate the expression of m⁶A machinery in salivary glands (SG) of SjS mice.** Examining m⁶A writers (METTL3, METTL14, WTAP) and erasers (FTO, ALKBH5) expression in SG of mouse models of SjS at the critical steps of disease development using RT-qPCR. *Task 1 will be mainly performed in Inserm UMR1184. Sample collection will take place in Inserm U1151.* **TASK 2 – Investigate the therapeutic potential of targeting the m6A pathway in mice model of SjS.** Here, we will use the newly-developed molecule STM2457, an inhibitor of the enzymatic activity of METTL3 (Yankova et al., 2021). *Task 2 will be mainly performed in Inserm U1151.* Successful completion of the proposed studies will help establish the m⁶A pathway as a possible future therapeutic target for SjS.

Projet de stage Master 2

Discipline : Immunologie

Durée du stage : 6 mois

Date de début du stage : A partir du 12 janvier 2023

Laboratoire d'accueil : UMR Inserm 1152, site Bichat, UFR de Médecine, Université de Paris

Encadrement : Georges Doumet Helou (georgesdhelou@outlook.com) et Bruno Crestani (bruno.crestani@aphp.fr)

Contexte scientifique du projet envisagé

La fibrose pulmonaire est une complication commune dans de nombreuses maladies respiratoires aiguës et chroniques, ainsi que dans certaines maladies auto-immunes à expression systémique. Parmi ces pathologies, la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) est une pneumopathie interstitielle de cause inconnue constituant la forme la plus sévère et la plus fréquente. Elle est caractérisée par un remodelage alvéolaire et une accumulation progressive et irréversible d'un tissu cicatriciel fibreux dans l'interstitium pulmonaire son évolution irréversible. Nous disposons de deux traitements à action anti-fibrosante, le nintedanib et la pirfenidone, qui réduisent la vitesse de progression de la fibrose, mais n'empêchent pas sa progression inexorable vers une insuffisance respiratoire fatale¹. Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans l'initiation et la progression de la maladie, permettrait de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques.

Les mécanismes de la fibrose pulmonaire idiopathique demeurent mal compris. Une dysfonction primaire des cellules épithéliales alvéolaires liée au vieillissement, à une susceptibilité génétique et à des agressions environnementales diverses telles que le tabac entraînerait l'activation de voies pro-fibrosantes aboutissant au recrutement, à la prolifération et à l'activation de cellules mésenchymateuses. Dans la FPI, l'inflammation n'est pas la cause principale de la maladie, mais il existe une modification profonde de la nature et de l'état de différenciation des populations cellulaires immunes dans le poumon, notamment des macrophages. Le rôle respectif des cellules de l'immunité innée et des cellules de l'immunité adaptative dans l'aggravation de la fibrose est discuté. Cependant, plusieurs études récentes

ont démontré la capacité du système immunitaire à moduler la progression de la fibrose et ce via la production des cytokines pro- ou anti- fibrosantes et de certains facteurs de croissance. Parmi ces cytokines clés, nous retrouvons le TGF- β (pour *tumor necrosis factor*) et la CCL18 qui est toujours associée à la sévérité de la maladie. En particulier, le TGF- β est un inducteur puissant de la production des composantes de la matrice extracellulaire par les fibroblastes, notamment le collagène. Les macrophages alvéolaires constituent la source majeure de TGF- β et de la CCL18 dans les poumons, confirmant que l'activation de certaines cellules du système immunitaire participe à l'initiation et/ou la perpétuation des mécanismes de développement de la fibrose pulmonaire. Ainsi, une modulation ciblée des macrophages pro-fibrosants pourraient provoquer une transition vers un profil anti-fibrosant limitant l'activation des fibroblastes.

L'hypothèse du projet

L'hypothèse qui sous-tend ce projet de recherche est que la modulation des macrophages dans la FPI permettrait leur reprogrammation vers une activité anti-fibrosante.

Rationnel scientifique du projet

Le système immunitaire dispose d'une variété de récepteurs co-stimulateurs et inhibiteurs qui participent à la régulation de la réponse immunitaire et maintiennent l'intégrité du système immunitaire. Les traitements visant certains récepteurs immunitaires ont révolutionné l'immunothérapie anti-cancéreuse et confirmé la possibilité d'utiliser le système immunitaire pour contrôler une maladie néo-proliférative. LAIR-1 (pour *Leukocyte associated immunoglobulin like receptor 1*) est un récepteur immunitaire connu pour ses fonctions inhibitrices. Différentes cellules immunitaires, telles que les cellules dendritiques, les macrophages, les neutrophiles et les lymphocytes B et T, peuvent exprimer LAIR-1 en fonction de leur état d'activation²⁻⁶. Il a été montré que le collagène est un ligand physiologique de LAIR-1, et que cette interaction est due à une forte affinité entre le domaine membranaire du récepteur et une séquence conservée et répétitive du collagène. En outre, le collagène pourrait induire et maintenir l'expression de LAIR-1 dans certains contextes inflammatoires associés à un important remodelage tissulaire⁷⁻⁹. Malgré un rationnel scientifique pertinent, aucune étude n'a évalué l'implication de LAIR-1 dans la FPI, notamment dans l'activation des macrophages alvéolaires connus pour leur activité pro-fibrosante dans ce contexte pathologique. Ainsi nous proposons dans ce projet l'étude de l'expression de LAIR-1 sur les macrophages pulmonaires dans la FPI et d'évaluer son implication dans la réponse pro-fibrosante.

Objectifs du projet

Caractériser l'expression de LAIR-1 dans la FPI et étudier *in vitro* l'effet de la modulation de LAIR-1 sur l'activité fibrosante des macrophages pulmonaires.

Etat de l'art lié à la question scientifique

Une étude récente a montré que LAIR-1 est induit et impliqué dans la régulation de la réponse immunitaire dans l'asthme allergique¹⁰. Cela suggère un potentiel rôle pour LAIR-1 dans la régulation des acteurs immunitaires pulmonaires dans d'autres contextes pathologiques. En parallèle, une autre étude récente a montré la capacité de LAIR-1 à réguler les fonctions des monocytes et des cellules dendritiques humaines en réponse aux lipopolysaccharides bactériens et à l'interféron-*alpha*. En particulier, le traitement de ces cellules avec un agoniste LAIR-1 commercial induit une diminution significative dans la production des cytokines comme les interleukines 6 et 8, ainsi que le TNF- α (pour *tumor necrosis factor*)¹¹. Cependant, aucune étude n'a évalué l'expression de LAIR-1 dans les macrophages pulmonaires issus des patients FPI, ni investigué l'effet de la modulation de LAIR-1 sur l'activité pro-fibrosante de ces macrophages.

Résultats préliminaires

Pour commencer notre projet sur des bases solides, nous avons exploré en premier l'expression transcriptionnelle du gène codant pour LAIR-1 dans les macrophages pulmonaires. En se servant des bases de données transcriptionnelles librement accessibles, nous avons re-analysé une étude de single cell RNA sequencing comparant des cellules pulmonaires issues des patients FPI versus des donneurs sains. D'une façon intéressante, nos analyses montrent que le gène *LAIR-1* est principalement exprimé dans les différentes sous-populations macrophagiques. En outre, l'expression de LAIR-1 est induite dans les macrophages issues des patients FPI en comparaison avec ceux issus des donneurs sains. Ainsi, LAIR-1 pourrait jouer un rôle dans la modulation de l'activation des macrophages dans la FPI.

Procédure expérimentale

Le projet repose sur trois approches principales : transcriptionnelle, traductionnelle puis fonctionnelle.

- a) En premier lieu, l'étudiant(e) exploitera les données transcriptionnelles issues des publications récentes portant sur la FPI, afin de consolider nos résultats préliminaires et de confirmer l'expression du gène *LAIR1* dans les différentes sous-populations de macrophages pulmonaires.

Différentes ressources bio-informatiques seront mises à la disposition de l'étudiant(e) pour accomplir cette tâche.

- b) Ensuite, l'étudiant(e) procédera à une validation des résultats à l'échelle traductionnelle. Il sera primordial d'évaluer par cytométrie en flux puis de comparer le niveau d'expression de LAIR-1 sur les macrophages alvéolaires des patients FPI en comparaison avec des donneurs sains. Pour ce faire, nous avons accès au recrutement des patients du centre de référence des maladies pulmonaires rares de l'adulte de l'hôpital Bichat (coordonné par le Prof Bruno Crestani). En cas d'imprévu, nous pourrions nous contenter de l'étude de l'expression de LAIR-1 dans un modèle murin de FPI induit par la bléomycine. Le laboratoire d'accueil possède l'expertise des modèles expérimentaux comme démontré dans ses publications.

De même, LAIR-1 sera identifié dans les biopsies pulmonaires par les marquages d'immunohistologie. En particulier, nous chercherons une colocalisation entre LAIR-1 et les marqueurs des macrophages pulmonaires (notamment CD68 et CD163). Le laboratoire d'accueil possède une bio-banque provenant de patients atteints de fibroses pulmonaires (FPI notamment) et de contrôles qui pourra être utilisée pour étudier l'expression de LAIR-1 dans les biopsies pulmonaires.

- c) Des tests fonctionnels *in vitro* suivront afin d'étudier l'effet de l'inhibition/activation de LAIR-1 (médiées par des anticorps commerciaux disponibles sur le marché) sur l'activité pro-fibrosante des macrophages alvéolaires issus des patients FPI et mis en culture selon un protocole publié¹². Afin de comprendre les mécanismes d'action, nous évaluerons les effets de la modulation de LAIR-1 selon l'expression des médiateurs pro-/anti-fibrosants. Parmi ces médiateurs, nous étudierons par RT-qPCR l'expression des gènes codant pour le TGF- β , COL1A1, ELN, CCL18, LAIR-1 et ACTA2. Puis par ELISA, nous quantifierons la production de TGF- β et de la CCL18 en culture.

Indicateurs de suivi du déroulement du projet

L'étudiant(e) sera encadré au quotidien et aura des réunions hebdomadaires avec son encadrant pour discuter les résultats obtenus et planifier les prochaines expériences.

Bibliographie

1. Lederer, D. J. & Martinez, F. J. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *New England Journal of Medicine* **378**, 1811–1823 (2018).
2. Meyaard, L. *et al.* LAIR-1, a Novel Inhibitory Receptor Expressed on Human Mononuclear Leukocytes. *Immunity* **7**, 283–290 (1997).
3. Jansen, C. A. *et al.* Regulated expression of the inhibitory receptor LAIR-1 on human peripheral T cells during T cell activation and differentiation. *European Journal of Immunology* **37**, 914–924 (2007).
4. Vries, A.-R. V. der V. de, Clevers, H., Logtenberg, T. & Meyaard, L. Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor-1 (LAIR-1) is differentially expressed during human B cell differentiation and inhibits B cell receptor-mediated signaling. *European Journal of Immunology* **29**, 3160–3167 (1999).
5. Verbrugge, A., Ruiter, T. de, Geest, C., Coffey, P. J. & Meyaard, L. Differential expression of leukocyte-associated Ig-like receptor-1 during neutrophil differentiation and activation. *Journal of Leukocyte Biology* **79**, 828–836 (2006).
6. Bonaccorsi, I. *et al.* The Immune Inhibitory Receptor LAIR-1 Is Highly Expressed by Plasmacytoid Dendritic Cells and Acts Complementary with NKp44 to Control IFN α Production. *PLOS ONE* **5**, e15080 (2010).
7. Lebbink, R. J. *et al.* Collagens are functional, high affinity ligands for the inhibitory immune receptor LAIR-1. *J Exp Med* **203**, 1419–1425 (2006).
8. Tang, X. *et al.* A single residue, arginine 65, is critical for the functional interaction of leukocyte-associated inhibitory receptor-1 with collagens. *J Immunol* **182**, 5446–5452 (2009).
9. Kim, S. *et al.* The Role of Leukocyte Associated Immunoglobulin-Like Receptor-1 (LAIR-1) in Suppressing Collagen-Induced Arthritis. *J Immunol* **199**, 2692–2700 (2017).
10. Helou, D. G. *et al.* LAIR-1 acts as an immune checkpoint on activated ILC2s and regulates the induction of airway hyperreactivity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* (2021) doi:10.1016/j.jaci.2021.05.042.
11. Carvalheiro, T. *et al.* Leukocyte Associated Immunoglobulin Like Receptor 1 Regulation and Function on Monocytes and Dendritic Cells During Inflammation. *Front. Immunol.* **11**, (2020).
12. Nayak, D. K., Mendez, O., Bowen, S. & Mohanakumar, T. Isolation and In Vitro Culture of Murine and Human Alveolar Macrophages. *J Vis Exp* (2018) doi:10.3791/57287.