



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **04 juillet 2022**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame LE SAUX Olivia**

Titre de la thèse : « *Microenvironnement immunitaire du cancer de l'ovaire : évolution sous chimio/immunothérapie néoadjuvante, caractérisation de l'hétérogénéité et rôle des cellules sécrétrices d'anticorps* »

## Résumé

Mon projet concerne les carcinomes ovariens séreux de haut grade (HGSOC) et avait pour objectifs i) d'étudier l'impact de la chimiothérapie (CT) +/- immunothérapie (IT) sur les cellules immunitaires adaptatives, ii) d'identifier des biomarqueurs de réponse à ces traitements, et iii) de caractériser l'hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle des cellules sécrétant des anticorps (ASC) infiltrant la tumeur et leur impact clinique.

A partir d'échantillons de l'essai clinique de phase II NeoPembrOv (PI : Pr Ray-Coquard I.), qui vise à évaluer l'efficacité du Pembrolizumab en association avec la CT dans les HGSOC non résécables d'emblée, et par du RNA-seq et des marquages de tumeurs par immunofluorescence multiplexée (multi-IF), nous montrons que la chimiothérapie augmente de manière significative la densité des structures lymphoïdes tertiaires, des lymphocytes CD8 et des ASC IgA+ à la fois dans la tumeur et le stroma, et des macrophages de type 2, tandis que les lymphocytes B totaux et les ASC IgG+ restent stables. L'addition d'anti-PD-1 est associée à une augmentation significative des lymphocytes T CD8+PD1+ intra-épithéliaux. Une infiltration monocytaire exprimant de faibles niveaux de TREM2 ainsi qu'une infiltration intra-épithéliale de CD8+PD1+ sous traitement sont associées à la réponse au traitement évaluée par une absence de rechute à 24 mois. Au contraire, une forte densité en cellules endothéliales exprimant des taux élevés de PGF avant traitement était associée à une résistance à la combinaison CT+anti-PD-1.

Grâce à des analyses par cytométrie de flux multiparamétrique, des marquages multi-IF associés à la pathologie digitale et du séquençage d'ARN en cellules uniques, nous montrons que les HGSOC sont infiltrés par des cellules B aux différents stades de différenciation, dont 40 % sont des ASC constitués à la fois de plasmablastes et de cellules plus matures spécialisées dans la sécrétion d'anticorps. Ces ASC se localisent dans le stroma et dans une moindre mesure dans la tumeurs, produisent majoritairement des IgG, mais une fraction des patientes est enrichie en ASC IgA+. La chimiothérapie néo-adjuvante (NACT) induit un remodelage du compartiment B avec une augmentation des lymphocytes B naïfs et des ASC et des B mémoires exprimant IgA. L'exploration des données transcriptomiques (RNA-seq) du TCGA et l'analyse multi-IF d'une cohorte de patientes a révélé qu'une densité tumorale élevée d'ASC à IgG, et dans une moindre mesure d'ASC à IgA, est associée à une meilleure survie dans les HGSOC. De plus, un ratio IgA/IgG élevé est associé à une moins bonne survie sans progression, suggérant un impact délétère des IgA. En revanche, aucun impact n'est retrouvé pour les patientes traitées par NACT. L'analyse des réactivités antigéniques des anticorps dans le sérum et les tumeurs (n = 35) à l'aide de puces à peptides chevauchant montre que les IgG et les IgA ciblent principalement des protéines différentes et que les antigènes associés à la tumeur et les cancer-testis antigènes sont plus fréquemment ciblées dans le micro-environnement tumoral par les IgG que

par les IgA. Enfin, nos données préliminaires de scRNA-seq combiné au BCR-seq montrent une plus faible expansion clonale dans les tumeurs traitées versus naïves, à la fois dans les lymphocytes B mémoires et les ASC, et que les ASC à IgA présentent un phénotype immunosuppresseur avec une régulation à la hausse de gènes impliqués dans l'angiogenèse (*VEGFA*, *VEGFB*, *PIGF*, *ANG*, *AGGF1*).