

Avis de Soutenance

Monsieur Alexis SABY

Immunologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés
Caractérisation des fonctions spécifiques des cellules dendritiques humaines dans le microenvironnement immunitaire tumoral

Travaux dirigés par Madame Jenny VALLADEAU-GUILEMOND

Soutenance prévue le **lundi 15 juin 2026** à 14h00

Lieu : Amphithéâtre Christophe et Rodolphe Mérieux CRCL / CLB 28 Rue Laënnec, 69008 Lyon

Composition du jury proposé

Mme Jenny VALLADEAU-GUILEMOND	Directrice de recherche	INSERM Lyon	Directrice de thèse
M. Marc DALOD	Directeur de recherche	CNRS Marseille	Rapporteur
Mme Damya LAOUI	Professeure associée	Univeristé Libre de Bruxelles (Belgique)	Rapporteure
M. Pierre GUERMONPREZ	Directeur de recherche	CNRS Paris	Examineur
M. Xavier LAHAYE	Chargé de recherche	CNRS Paris	Examineur
Mme Fabienne VENET	Professeure des universités - praticienne hospitalière	Lyon 1 Université	Examinatrice

Mots-clés : Cellules Dendritiques, Présentation croisée d'antigènes, Cancer, IFN-III, pDCs, cDC1

Résumé :

Les cellules dendritiques constituent un groupe unique de cellules immunitaires essentielles pour l'orchestration des réponses immunitaires adaptatives. Dans le microenvironnement tumoral, elles forment une population hétérogène aux fonctions multiples, capables à la fois de capturer des antigènes tumoraux afin de les présenter aux lymphocytes T cytotoxiques dans les ganglions, mais aussi de produire des quantités importantes de cytokines afin d'induire des réponses immunitaires anti-tumorales. Parmi les cellules dendritiques, les cDC1 sont associées à un bon pronostic dans la majorité des cancers chez l'Homme de par leur spécialisation dans l'activation des lymphocytes TCD8+ et sont de ce fait essentielles pour générer une réponse anti-tumorale ainsi que pour la réponse aux immunothérapies. Parmi leurs fonctions, la présentation croisée d'antigènes est un phénomène unique principalement étudié dans des modèles murins, et dont les mécanismes cellulaires demeurent peu connus chez l'Homme. Les cDC1 produisent aussi des quantités importantes d'IFN-III et sont les seules responsables de leur sécrétion dans les tumeurs du sein, ce qui est également associé à un bon pronostic sur la survie des patientes. Bien que de nombreux

travaux étudient l'IFN-III dans des contextes viraux, son étude dans le cancer, et encore plus chez l'Homme, reste largement inexplorée. Afin d'améliorer la compréhension de ces deux fonctions clés dans le microenvironnement immunitaire, nous avons étudié chez l'Homme le rôle de l'IFN-III sur le compartiment immunitaire tumoral et utilisé des systèmes de génération de cDC1 humaines in vitro afin d'explorer par des techniques de CRISPR-Cas9 le rôle de multiples gènes dans la présentation croisée d'antigènes. La première partie de nos travaux nous a permis d'identifier les pDCs comme les seules cellules immunitaires capables de répondre aux IFN-III dans des cancers du sein, de l'ovaire et du poumon. Nous avons ensuite mis en évidence l'effet de l'IFN-III sur les pDCs, qui les sensibilise à l'activation des TLR afin d'amplifier considérablement leur production d'IFN-I. Les pDCs sont des cellules dendritiques plastiques, sensibles au microenvironnement tumoral, qui perdent leur fonction majeure de production d'IFN-I en présence de cytokines immunosuppressives et acquièrent des fonctions tolérogéniques pouvant impacter négativement le pronostic des patients. Dans ce contexte, nous avons montré que l'IFN-III permet d'empêcher l'inhibition des pDCs par le TGF- β , PGE2 et des surnageants issus de tumeurs fraîches humaines, préservant ainsi leur capacité à produire des IFN-I. Ces travaux mettent en lumière l'une des fonctions principales de l'IFN-III dans le microenvironnement tumoral, qui pourrait à la fois expliquer son pronostic positif en agissant sur les pDCs pour maintenir un microenvironnement tumoral riche en interférons, et être exploité dans des combinaisons d'immunothérapies ciblant ces cellules. Pour la seconde partie de nos travaux, afin d'explorer pour la première fois le rôle de gènes spécifiques dans la présentation croisée d'antigènes par les cDC1 humaines, nous avons optimisé des protocoles de génération de cDC1 humaines à partir de cellules souches hématopoïétiques ainsi que des techniques d'édition génique par Crispr-Cas9. Combinés à des protocoles de présentation croisée utilisant des clones de lymphocytes TCD8+ humains, ces outils nous ont permis de valider le rôle de certains gènes tels que NOX2, RAC2 ou VCP, précédemment identifiés dans des modèles murins. Après avoir testé la délétion de multiples gènes, nous avons identifié le rôle important d'APOL1 et d'APOL3 dans la présentation croisée des antigènes par les cDC1 humaines, renforçant nos connaissances de ce mécanisme clé chez l'Homme. Ensemble, ces résultats explorant les fonctions spécifiques des cellules dendritiques chez l'Homme et leur modulation dans le cancer ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques ciblant les cDC1 ou les pDC.

Summary:

Dendritic cells constitute a unique group of immune cells essential for orchestrating adaptive immune responses. Within the tumor microenvironment, they form a heterogeneous population with multiple functions, capable of both capturing tumor antigens for presentation to cytotoxic T lymphocytes in lymph nodes and producing large amounts of cytokines to induce anti-tumor immune responses. Among dendritic cells, cDC1s are associated with a favorable prognosis in the majority of human cancers owing to their specialization in CD8+ T lymphocyte activation, making them essential for generating tumor-specific immune responses as well as for the response to clinical immunotherapies. Among their functions, antigen cross-presentation is a unique phenomenon primarily studied in murine models, and whose cellular mechanisms remain poorly understood in humans. cDC1s also produce large amounts of IFN-III and are the only cells responsible for their secretion in breast tumors, which is likewise associated with a favorable prognosis for patient survival. Although numerous studies have investigated IFN-III in viral contexts, its role in cancer, and even more so in humans, remains largely unexplored. To improve our understanding of these two key functions within the tumor immune microenvironment, we studied the role of IFN-III on the tumor immune compartment in humans and used in vitro human cDC1 generation systems to explore, through CRISPR-Cas9 gene editing, the role of multiple genes in antigen cross-presentation. The first part of our work allowed us to identify pDCs as the only immune cells capable of responding to IFN-III in breast, ovarian, and lung cancers. We then demonstrated the effect of IFN-III on pDCs, which sensitizes them to TLR activation in order to

considerably amplify their IFN-I production. pDCs are plasmacytoid dendritic cells, sensitive to the tumor microenvironment, that lose their major IFN-I-producing function in the presence of immunosuppressive cytokines and acquire tolerogenic functions that can negatively impact patient prognosis. In this context, we showed that IFN-III prevents the inhibition of pDCs by TGF- β , PGE₂, and supernatants from fresh human tumors, thereby preserving their capacity to produce IFN-I. This work sheds light on one of the main functions of IFN-III in the tumor microenvironment, which could both explain its positive prognostic value by acting on pDCs to maintain an interferon-rich tumor microenvironment, and be exploited in immunotherapy combinations targeting these cells. For the second part of our work, in order to explore for the first time the role of specific genes in antigen cross-presentation by human cDC1s, we optimized protocols for generating human cDC1s from hematopoietic stem cells together with CRISPR-Cas9 gene editing techniques. Combined with cross-presentation assays using a specific antigen and human CD8⁺ T lymphocyte clones, these tools allowed us to validate the role of genes such as NOX2, RAC2, and VCP, previously identified in murine models. After testing the deletion of multiple genes, we identified an important role for APOL1 and APOL3 in antigen cross-presentation by human cDC1s, broadening our understanding of this key mechanism in humans. Together, these results exploring the specific functions of dendritic cells in humans and their modulation in cancer open new therapeutic perspectives targeting cDC1s or pDCs.