

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : Contrats doctoraux UR "Ordinaires" (CDO)
Titre de la thèse : Développement de stratégies de ciblage pour le traitement de l'échinococcose alvéolaire	3 mots-clés : Parasitologie Thérapeutique Immunologie	
Unité/équipe encadrante : Irset - Inserm UMR_S 1085, Equipe 2, Infection, immunité et facteurs environnementaux dans le foie (2IFEF)		
Directrice ou Directeur de thèse : Dr Florence Robert-Gangneux à 40% (IRSET équipe 2, PU-PH) Co-encadrant-e (non HDR) s'il y a lieu : Dr Sarah Dion à 30% (IRSET équipe 2, MCU) Co-Encadrant-e (non HDR) s'il y a lieu : Dr Brice Autier à 30% (IRSET équipe 2, MCU-PH)	N° de tél : 02 23 23 44 99/02 99 28 42 68 Mail : florence.robert-gangneux@univ-rennes.fr Année d'obtention de l'HDR (ou dérogation à l'HDR) : 2012 N° de tél : 02 23 23 48 19 Mail : sarah.dion@univ-rennes.fr N° de tél : 02 23 23 45 17 Mail : brice.autier@univ-rennes.fr	
Résumé de la thèse (2000 caractères) : L'échinococcose alvéolaire (EA) est une pathologie parasitaire majoritairement hépatique de très mauvais pronostic. Bien que parasitaire, cette infection par <i>Echinococcus multilocularis</i> reproduit par son évolution clinique invasive et sa capacité métastatique toutes les caractéristiques d'un cancer. Le développement de stratégies innovantes afin de compléter l'arsenal thérapeutique actuel, malheureusement non satisfaisant, reste un véritable challenge scientifique. Le projet de thèse s'appuie sur des données obtenues précédemment par l'équipe sur l'étude de la physiopathologie d' <i>E. multilocularis</i> , ainsi que sur l'évaluation de stratégies thérapeutiques innovantes pour la prise en charge de cette parasitose (Autier et al. 2023, Autier et al en préparation). Le la candidat.e aura en charge d'étudier les mécanismes précis sous-jacents à l'activité des macrophages dans l'EA par différentes approches et modèles et en parallèle d'étudier différentes approches thérapeutiques innovantes basées en partie sur l'immunomodulation de la réponse des macrophages. Le la candidat.e devra définir les sous-types de macrophages et les profils transcriptomiques dans un modèle d'AE chez la souris puis chez des patients atteints d'EA. Ce projet utilisera des techniques générant des données haut débit comme le single-cell RNA sequencing (scRNAseq), des dosages multiplex de cytokines, ainsi que par des marquages immunohistologiques multiplex par cytométrie de masse sur des coupes de foies de patients atteints d'EA. L'objectif final de ce projet est d'évaluer des molécules disposant déjà d'une autorisation de mise sur le marché pour d'autres indications ciblant les macrophages dans un modèle animal d'infection hépatique d'EA afin d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques contre l'EA. Cet arsenal thérapeutique utilisant des mécanismes d'immunomodulation sera complémentaire de stratégies thérapeutiques ciblant directement le parasite et ayant des propriétés parasitocides.		
Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) : L'échinococcose alvéolaire est une pathologie parasitaire de très mauvais pronostic, dont la présentation mime un cancer. Actuellement la chirurgie hépatique est proposée aux patients éligibles avec un encadrement chimioprophylactique par benzimidazolé, seulement parasitostatique. Pour un certain nombre de patients la chirurgie n'est pas envisageable et ceux-ci se retrouvent en impasse thérapeutique. Cette infection émergente, initialement très localisée dans l'est de la France (Franche-Comté, Rhône-Alpes), progresse de plus en plus vers l'ouest. Le développement de stratégies innovantes afin de compléter l'arsenal thérapeutique actuel, malheureusement non satisfaisant, reste un véritable challenge scientifique. Localisé au niveau du foie chez l'homme, le parasite se développe sous forme larvaire de façon insidieuse en envahissant progressivement tout le parenchyme hépatique. La larve, extracellulaire, est constituée de plusieurs membranes dont la plus interne contient notamment des cellules souches lui permettant une croissance perpétuelle et une capacité de dissémination métastatique. La réponse immunitaire de l'hôte détermine l'issue de l'invasion larvaire par <i>E. multilocularis</i> et un certain nombre de résultats suggèrent que les macrophages jouent un rôle clé dans la physiopathologie des AE. L'étude précise de ces populations semble donc primordiale pour envisager des stratégies thérapeutiques combinant des propriétés d'immunomodulation avec des propriétés parasitocides. Ce projet fait l'objet d'une demande de financement auprès de l'ANR (Autier Brice, AAPG2024, JCJC) dans le cadre de l'étude des mécanismes sous-jacents à l'activité des macrophages dans l'EA et a déjà un financement dans le cadre de la mise au point de stratégies thérapeutiques innovantes contre l'EA (PRI INSERM, AAP 2020).		
Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) : Face au manque de thérapeutiques pour l'échinococcose alvéolaire, ce champ de recherche reste très ouvert. Ce projet repose sur l'hypothèse que la résistance et/ou la susceptibilité à <i>E. multilocularis</i> dépend du/des sous-types spécifiques de macrophages. Ces sous-populations pourraient être ciblées par l'immunothérapie afin de renforcer un sous-type de macrophages protecteurs de l'hôte, ou au contraire à inactiver un sous-type de macrophage favorisant l'AE. L'AE étant une maladie parasitaire rare, le développement de ces nouveaux médicaments est souvent négligé par l'industrie pharmaceutique. Pour cette raison, cette stratégie pourrait s'appuyer sur le repositionnement de molécules actuellement en cours d'évaluation pour cibler le microenvironnement tumoral. Les données sur les populations de macrophages dans l'EA issues de la littérature étant limitées, il sera nécessaire d'approfondir, dans un premier temps, les connaissances actuelles sur les populations macrophagiques impliquées en s'appuyant sur l'évolution des techniques permettant de définir de façon plus fine ces populations de cellules immunitaires. A terme, en s'appuyant sur ces travaux de thèse, des approches thérapeutiques basées sur l'immunomodulation des populations		

macrophagiques impliquées dans l'évolution du développement de la pathologie seront mises en œuvre et combinées à des stratégies thérapeutiques basées sur l'utilisation de molécules parasitocides.

Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :

Ce projet de thèse sera divisé en 4 grandes étapes

- **Première étape :** Définir les sous-types de macrophages et les profils transcriptomiques dans un modèle d'EA chez la souris. Cette première étape vise à décrire de façon très précise les différents sous-types de macrophages impliqués dans la physiopathologie de l'EA chez la souris en utilisant le séquençage par single-cell RNA (scRNAseq), et leur relation avec les cytokines systémiques (dosage multiplex par cytométrie en flux).
- **Deuxième étape :** Identifier les « signatures » de macrophages partagées entre le modèle d'EA chez la souris et l'AE chez l'Homme. Cette deuxième étape sera basée sur l'étude d'échantillons biologiques issus d'une cohorte rétrospective de patients atteints d'EA. Ces échantillons subiront des analyses par scRNAseq et marquages immunohistologiques multiplex par cytométrie de masse sur les biopsies de foie de patients.

• **Troisième étape :** confirmer le rôle protecteur/néfastes des sous-populations de macrophages sélectionnées. La combinaison des données obtenues au cours des étapes 1 et 2 permettront de définir des paramètres putatifs de sous-types de macrophages protecteurs de l'hôte ou favorisant l'EA. Cependant, avant de développer une stratégie de ciblage, il sera nécessaire de prouver les implications physiopathologiques de ces sous-types en modèle animal.

- **Quatrième étape :** Évaluer les molécules ciblant les macrophages dans un modèle d'EA chez la souris.

Cette étape combinera des stratégies thérapeutiques utilisant des principes actifs parasitocides.

Ce projet fait l'objet d'une demande de financement auprès de l'ANR (Autier Brice, AAPG2024, JCJC) dans le cadre de l'étude des mécanismes sous-jacents à l'activité des macrophages dans l'EA et a déjà un financement dans le cadre de la mise au point de stratégies thérapeutiques innovantes contre l'EA (PRI INSERM, AAP 2020).

L'étudiant.e sera amené.e au cours de ce projet de thèse à réaliser une mobilité à l'étranger en Suisse afin d'apprendre les différents tests d'évaluation de l'effet parasitocide dans l'équipe suisse du Prof. Britta Lundström-Stadelmann, de l'Institut de parasitologie de Bern. Cette équipe collabore sur le projet PRI INSERM NANOTHERA-ECHINO obtenu en 2020 dans lequel s'inscrivent une partie de ces travaux de thèse. Ce projet est également soutenu depuis le début par l'Université de Rennes, dans le cadre des collaborations internationales.

Compétences scientifiques et techniques requises par le/la candidat.e (2 lignes) :

Compétences scientifiques : rigueur scientifique, esprit de synthèse et d'initiative

Compétences techniques : expérimentation animale, culture cellulaire, biologie moléculaire, des connaissances de base en immunologie et cytométrie

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

Trim21 deficiency in mice increases HCC carcinogenesis in a NASH context and is associated with immune checkpoint upregulation. Ghania Hounana Kara-Ali, Luis Cano, **Sarah Dion**, Ghiles Imerzoukene, Annaig Hamon, Mélanie Simoes Eugénio, Claire Piquet-Pellorce, Gevorg Ghukasyan, Michel Samson, Jacques Le Seyec, Marie-Thérèse Dimanche-Boitrel. *Int. J. Cancer*. **2024**;1–15. doi : 10.1002/ijc.34869

Endogenous IL-33 accelerates metacystode growth during late-stage alveolar echinococcosis. **Autier B.**, Manuel C., Lundstroem-Stadelmann B., Girard J-P, Gottstein B., Gangneux J-P, Samson M., **Robert-Gangneux F., Dion S.** *Microbiol Spectr.* **2023 Feb 14**;11(2):e0423922. doi: 10.1128/spectrum.04239-22.

Alveolar echinococcosis in immunocompromised hosts. **Autier B**, Gottstein B, Millon L, Ramharter M, Gruener B, Bresson-Hadni S, **Dion S**, **Robert-Gangneux F.** *Clin Microbiol Infect.* **2022 Dec 15**:S1198-743X(22)00630-9. doi: 10.1016/j.cmi.2022.12.010. Review.

Collaborations nationales et internationales :

- Prof. Dr. Britta Lundström-Stadelmann, Co-Director Institute of Parasitology, Bern, Switzerland

- Prof Isabelle Dimier-Poisson, Responsable Equipe "BioMédicaments Anti-Parasitaires" BioMAP, Directrice Adjointe UMR Université-INRA ISP 1282, Tours et Dr N. Aubrey Equipe "BioMédicaments Anti-Parasitaires" BioMAP

- Prof Peter Deplazes, Institute of Parasitology, the Parasitic Zoonoses and Translational Research team, Zurich, Suisse

THESIS TOPIC

Subject N° (to be completed by the ED):	FUNDING:	<input checked="" type="checkbox"/> Requested <input type="checkbox"/> Acquired	Funding origin: ordinary contract
Thesis title: Development of targeting strategy for the treatment of alveolar echinococcosis		3 keywords: Parasitology, Therapeutics, Immunology	
Unit / team: Research Institute for Environmental and Occupational Health, INSERM UMR 1085, Team Infection Immunity and Environmental Factor in Liver			
Director's names Prof Florence Robert-Gangneux 40% (IRSET team 2, PU-PH)		Phone number: 02 23 23 44 99/02 99 28 42 68 Email address: florence.robert-gangneux@univ-rennes.fr Year of HDR : 2012	
Co-supervisor'names (non HDR) Dr Sarah Dion 30% (IRSET team 2, MCU)		Phone number : 02 23 23 48 19 Email address: sarah.dion@univ-rennes.fr	
Co-supervisor'names (non HDR) Dr Brice Autier 30% (MCU-PH, IRSET team 2)		Phone : 02 23 23 45 17 EMail address: brice.autier@univ-rennes.fr	
Summary (2000 characters) :			
<p>Alveolar echinococcosis (AE) is a predominantly hepatic parasitic pathology with a very poor prognosis. Although parasitic, this infection by <i>Echinococcus multilocularis</i> reproduces all the characteristics of cancer through its invasive clinical course and its metastatic capacity. The development of innovative strategies to complement the current therapeutic arsenal, which is unfortunately unsatisfactory, remains a real scientific challenge.</p> <p>The thesis project is based on data previously obtained by the team on the study of the pathophysiology of <i>E. multilocularis</i>, as well as the evaluation of innovative therapeutic strategies for the management of this parasitosis (Autier et al. 2023, Autier et al in preparation).</p> <p>The candidate will be in charge of studying the precise mechanisms underlying the activity of macrophages in AE using different approaches and models and in parallel studying different innovative therapeutic approaches based in part on the immunomodulation of the macrophage response. The candidate will have to define macrophage subtypes by transcriptomic profiles in a mouse model of AE and then in patients with AE. This project will use techniques generating high-throughput data such as single-cell RNA sequencing (scRNAseq), multiplex cytokine assays, as well as Mass Cytometry Imaging (MCI) on liver sections from patients with AE. The final objective of this project is to evaluate molecules that already have marketing authorization for other indications targeting macrophages in an AE animal model in order to consider new strategies. therapeutics against AE. This therapeutic arsenal using immunomodulation mechanisms will be complementary to therapeutic strategies directly targeting the parasite and having parasitocidal properties.</p>			
Socio-economic and scientific context (approximately 10 lines):			
<p>Alveolar echinococcosis is a parasitic pathology with a very poor prognosis, whose presentation mimics cancer. Currently, liver surgery is offered to eligible patients with chemoprophylactic supervision with benzimidazole, parasitostatic only. For a certain number of patients, surgery is not an option and they find themselves in a therapeutic impasse. This emerging infection, initially very localized in eastern France (Franche-Comté, Rhône-Alpes), is progressing further and further westward. The development of innovative strategies to complement the current therapeutic arsenal, which is unfortunately unsatisfactory, remains a real scientific challenge.</p> <p>Located in the liver in humans, the parasite develops in larval form insidiously, gradually invading the entire liver parenchyma. The larva, extracellular, is made up of several membranes, the innermost of which contains stem cells allowing it perpetual growth and a capacity for metastatic dissemination. The host immune response determines the outcome of larval invasion by <i>E. multilocularis</i> and a number of findings suggest that macrophages play a key role in the pathophysiology of AE. The precise study of these populations therefore seems essential to consider therapeutic strategies combining immunomodulation properties with parasitocidal properties.</p> <p>This project is the subject of a funding request from the ANR (Autier Brice, AAPG2024, JCJC) as part of the study of the mechanisms underlying macrophage activity in AE and already has funding in the framework of the development of innovative therapeutic strategies against AE (PRI INSERM, AAP 2020).</p>			
Working hypothesis and aims (approximately 8 lines):			
<p>Faced with the lack of therapies for alveolar echinococcosis, this field of research remains very open. This project is based on the hypothesis that resistance and/or susceptibility to <i>E. multilocularis</i> depends on the specific macrophage subtype(s). These subpopulations could be targeted by immunotherapy in order to strengthen a subtype of macrophages that protect the host, or on the contrary to inactivate a subtype of macrophage favoring AE. As AE is a rare parasitic disease, the development of these new drugs is often neglected by the pharmaceutical industry. For this reason, this strategy could rely on the repositioning of molecules currently under evaluation to target the tumor microenvironment. Since the data on macrophage populations in AE from the literature are limited, it will be necessary to deepen, initially, the current knowledge on the macrophage populations involved by relying on the evolution of techniques allowing define these populations of immune cells more precisely.</p> <p>The final goal, based on this thesis work, therapeutic approaches based on the immunomodulation of macrophage populations involved in the evolution of the development of the pathology will be implemented and combined with therapeutic strategies based on the use of parasitocidal molecules.</p>			
Main milestones of the thesis (approximately 12 lines):			
<p>This thesis project will be divided into 4 main stages</p> <ul style="list-style-type: none"> • First step: Define macrophage subtypes and transcriptomic profiles in a mouse model of AE. 			

This first step aims to describe very precisely the different subtypes of macrophages involved in the pathophysiology of AE in mice using single-cell RNA sequencing (scRNAseq), and their relationship with systemic cytokines (assay multiplex by flow cytometry).

- **Second step:** Identify macrophage "signatures" shared between the mouse AEmodel and human AE.

This second step will be based on the study of biological samples from a retrospective cohort of patients with AE. These samples will undergo analyses by scRNAseq and multiplex immunohistological markings by mass cytometry on patient liver biopsies.

- **Third step:** confirm the protective/harmful role of the selected macrophage subpopulations.

Combining the data obtained during steps 1 and 2 will help define putative parameters of host-protective or AE-promoting macrophage subtypes. However, before developing a targeting strategy, it will be necessary to prove the pathophysiological implications of these subtypes in animal models.

- **Fourth step:** Evaluate molecules targeting macrophages in a mouse model of AE.

This step will combine therapeutic strategies using parasitocidal active ingredients.

This project is the subject of a funding request from the ANR (Autier Brice, AAPG2024, JCJC) as part of the study of the mechanisms underlying macrophage activity in AE and already has funding in the framework of the development of innovative therapeutic strategies against AE (PRI INSERM, AAP 2020).

During this thesis project, the student will be required to carry out a mobility abroad in Switzerland in order to learn the different tests for evaluating the parasitocidal effect in the Swiss team of Prof. Britta Lundström-Stadelmann, from the Institute of Parasitology in Bern. This team is collaborating on the PRI INSERM NANOTHERA-ECHINO project obtained in 2020, which includes part of this thesis work. This project has also been supported from the start by the University of Rennes, as part of international collaborations.

Scientific and technical skills required by the candidate (2 lines):

Scientific skills: scientific rigor, spirit of synthesis and initiative

Technical skills: animal experimentation, cell culture, molecular biology, basic knowledge in immunology and cytometry

3 publications from the team related to the topic (last 5 years):

- Trim21 deficiency in mice increases HCC carcinogenesis in a NASH context and is associated with immune checkpoint upregulation. Ghania Hounana Kara-Ali, Luis Cano, **Sarah Dion**, Ghiles Imerzoukene, Annaig Hamon, Mélanie Simoes Eugénio, Claire Piquet-Pellorce, Gevorg Ghukasyan, Michel Samson, Jacques Le Seyec, Marie-Thérèse Dimanche-Boitrel. *Int. J. Cancer*. **2024**;1–15. doi : 10.1002/ijc.34869

- Endogenous IL-33 accelerates metacystode growth during late-stage alveolar echinococcosis. **Autier B.**, Manuel C., Lundstroem-Stadelmann B., Girard J-P, Gottstein B., Gangneux J-P, Samson M., **Robert-Gangneux F., Dion S.** *Microbiol Spectr.* **2023** Feb 14;11(2):e0423922. doi: 10.1128/spectrum.04239-22.

- Alveolar echinococcosis in immunocompromised hosts. **Autier B.**, Gottstein B, Millon L, Ramharter M, Gruener B, Bresson-Hadni S, **Dion S., Robert-Gangneux F.** *Clin Microbiol Infect.* **2022** Dec 15:S1198-743X(22)00630-9. doi: 10.1016/j.cmi.2022.12.010. Review.

National and international collaborations:

- Prof. Dr. Britta Lundström-Stadelmann, Co-Director Institute of Parasitology, Bern, Switzerland

- Prof Isabelle Dimier-Poisson, Responsable Equipe "BioMédicaments Anti-Parasitaires" BioMAP, Directrice Adjointe UMR Université-INRA ISP 1282, Tours et Dr N. Aubrey Equipe "BioMédicaments Anti-Parasitaires" BioMAP

- Prof Peter Deplazes, Institute of Parasitology, the Parasitic Zoonoses and Translational Research team, Zurich, Suisse