

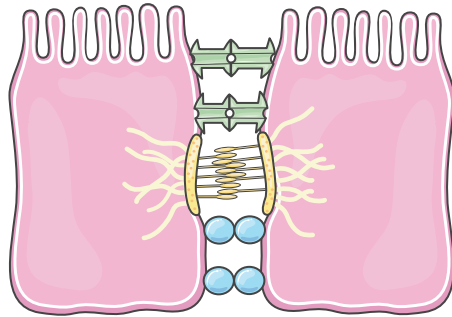


EXPLORATION DES FONCTIONS IMMUNOSUPPRESSIVES DES ARN NON CODANTS CONTENUS DANS LES EXOSOMES DU MÉLANOME

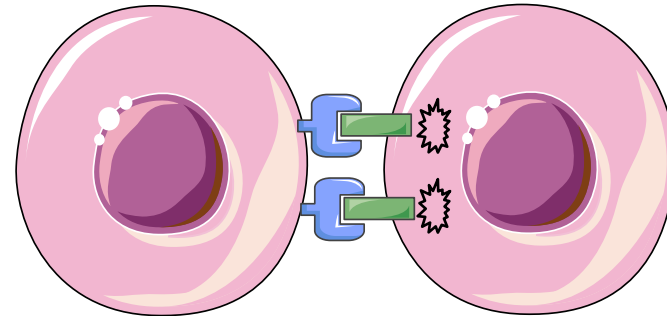
Delphine Fradin
Inserm U892

09 Décembre 2016

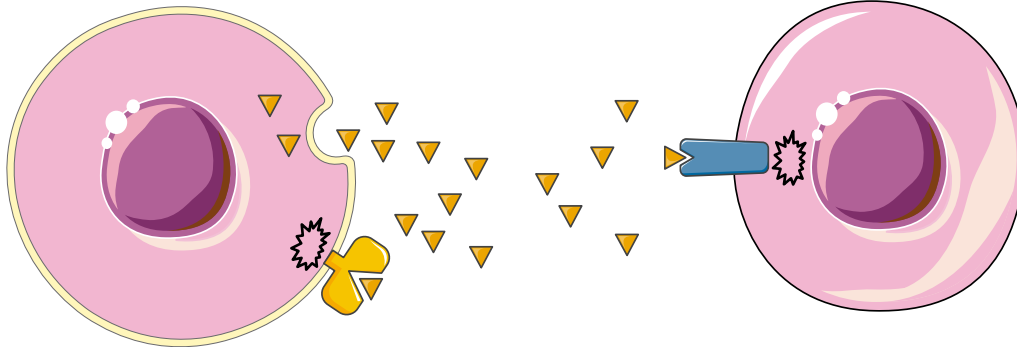
Communication entre les cellules



Les jonctions cellulaires
(jonctions serrées, desmosomes...)



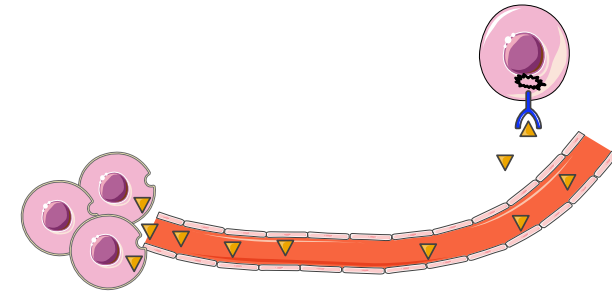
Communication par contact
(interaction récepteur-ligand...)



i) Autocrine

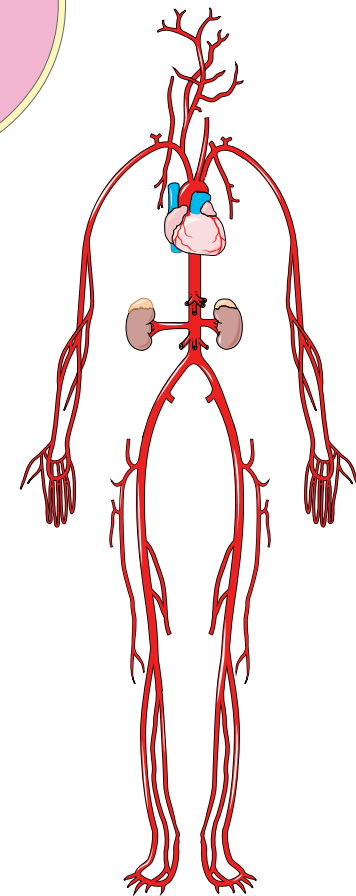
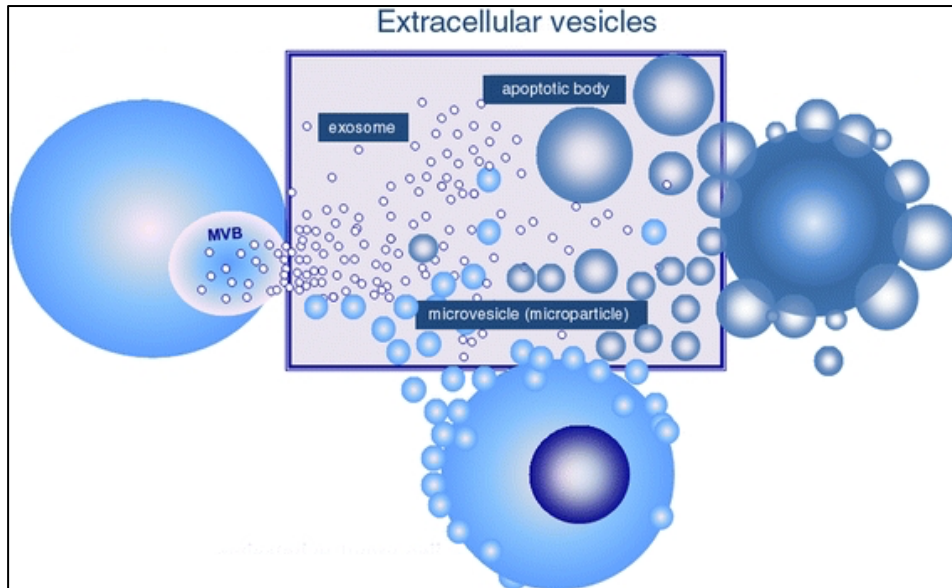
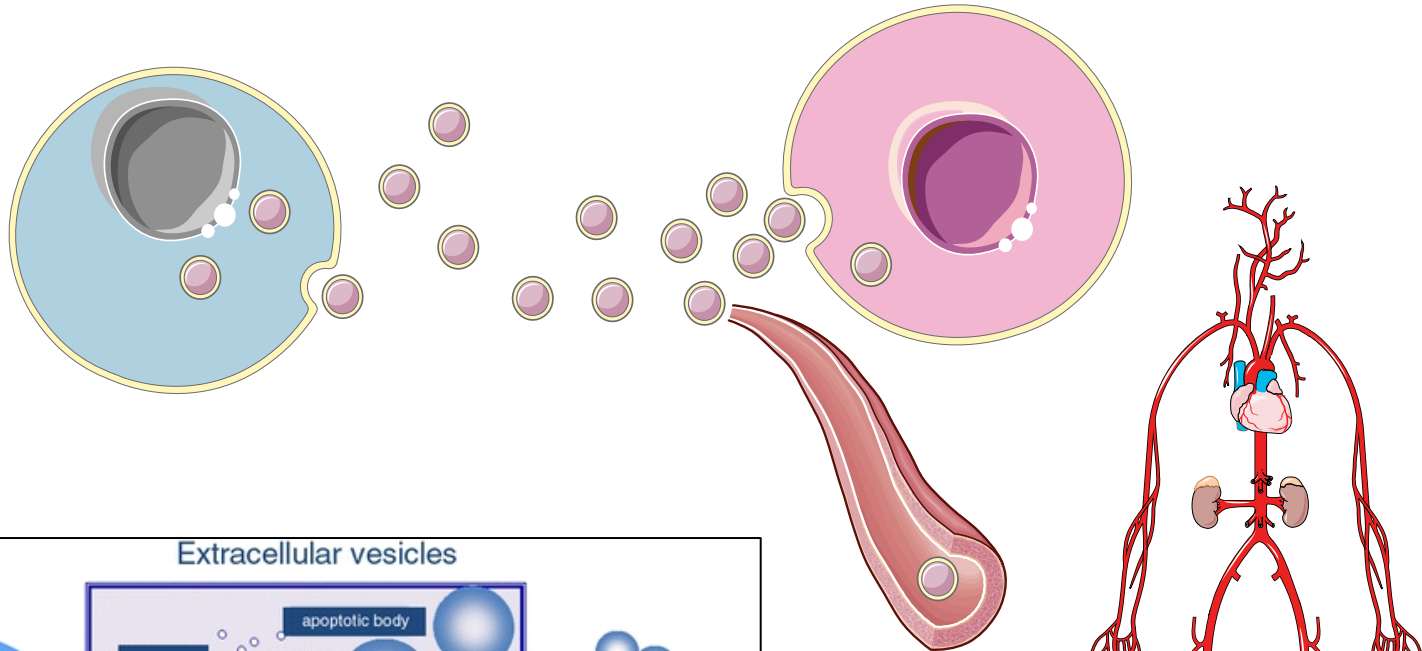
Communication à « distance » par hormones ou cytokines

ii) Paracrine



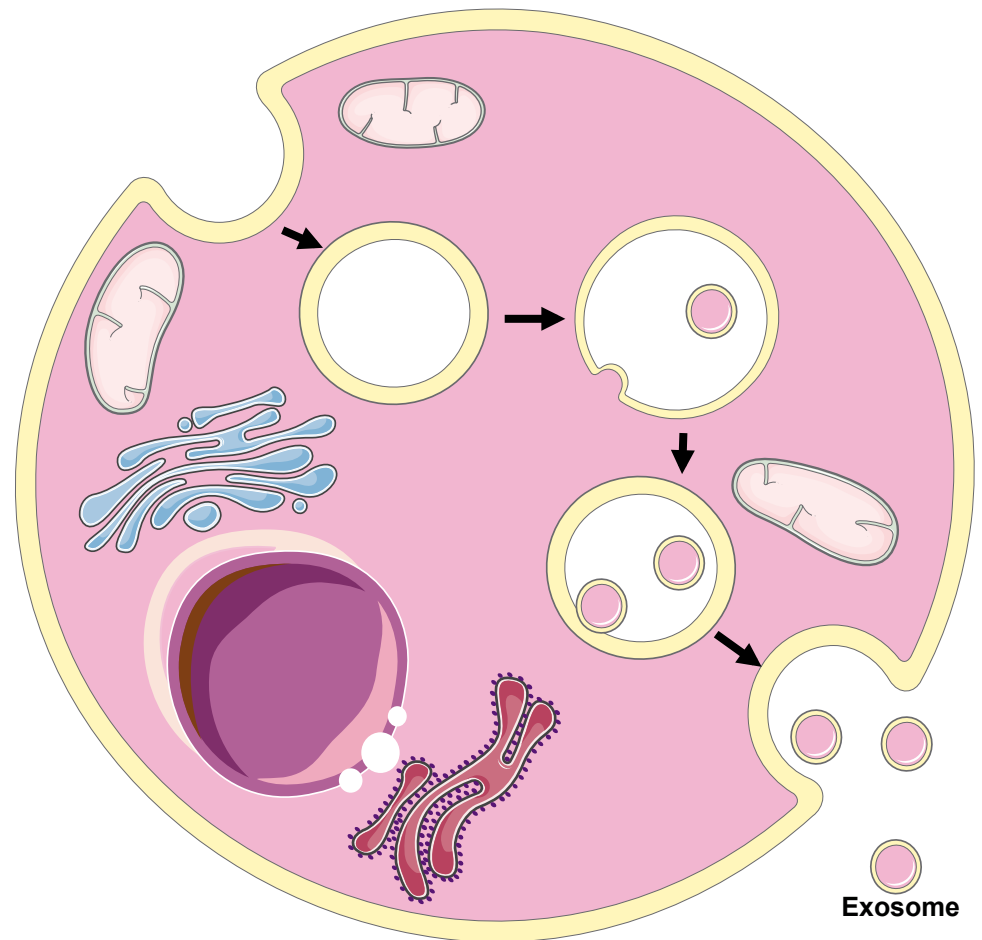
iii) Endocrine

Communication entre les cellules : vésicules extracellulaires



Exosomes : formation

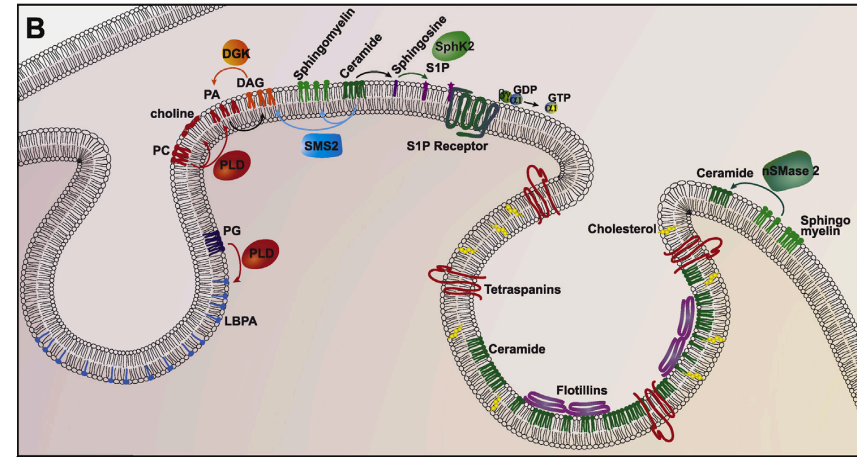
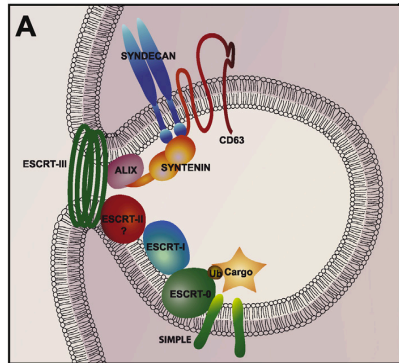
- Se forment dans les structures multivésiculaires (MVB)
- Contenu sélectionné



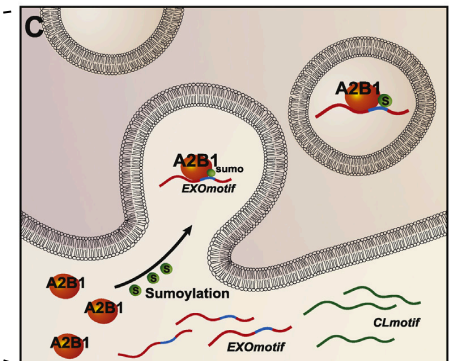
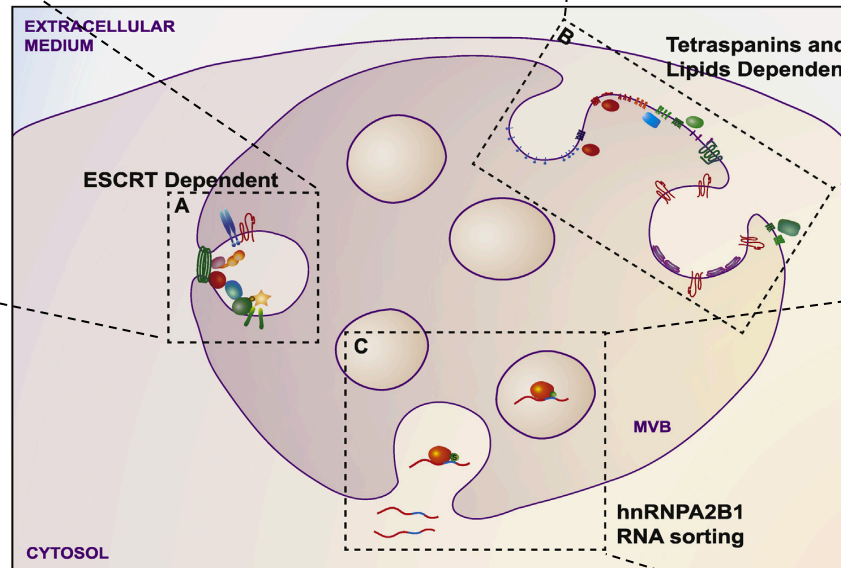
Exosomes : contenu

- Se forment dans les structures multivésiculaires (MVB)

- Contenu sélectionné

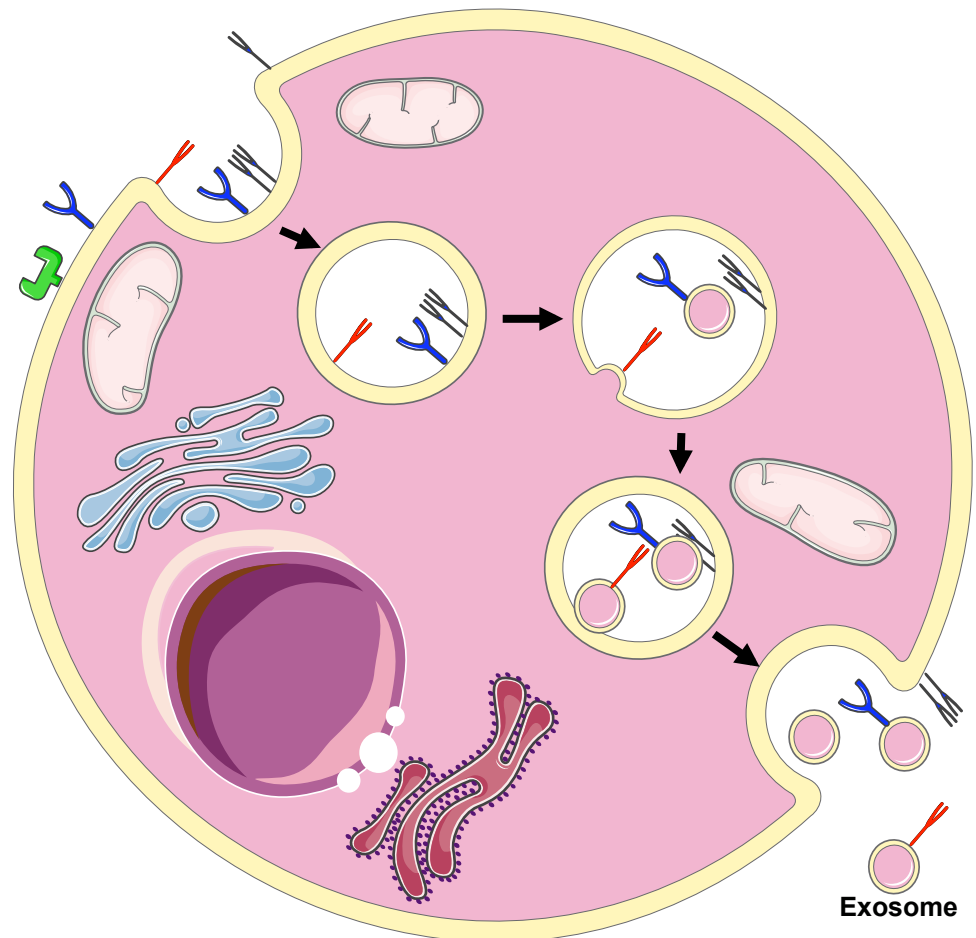


MECHANISMS OF CARGO SORTING INTO EXOSOMES



Exosomes : formation

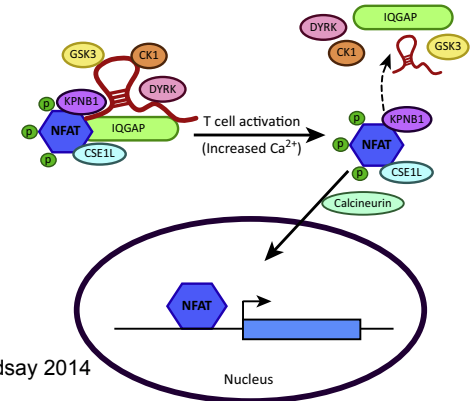
- Se forment dans les structures multivésiculaires (MVB)
- Contenu sélectionné
- Marqueurs membranaires identiques à la cellule
 - HLA-peptide



ARNs non codants et système immunitaire

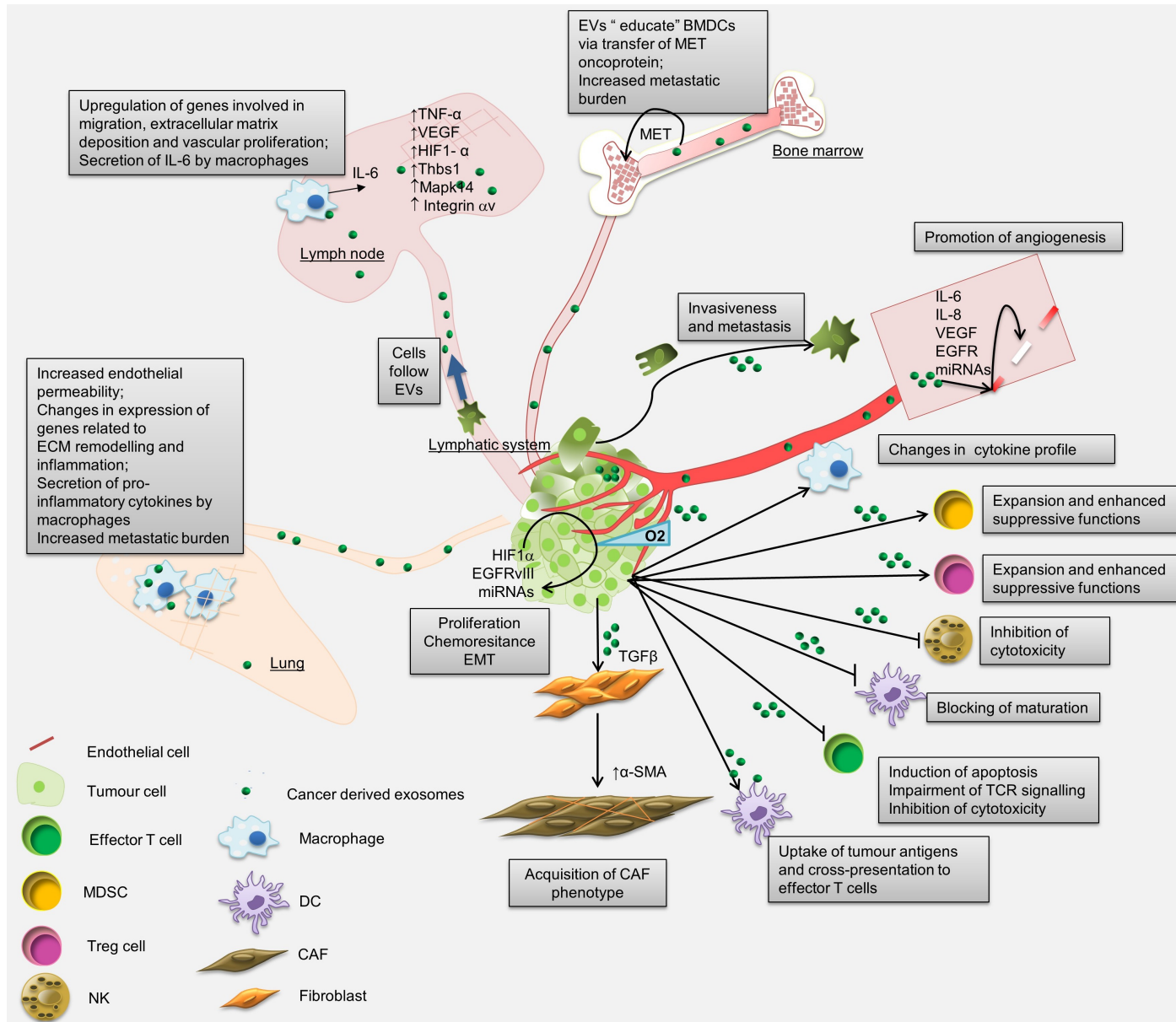
- Nombreux miRNAs et lncRNAs impliqués dans la différenciation et l'activation des cellules immunitaires

- NRON: régule la famille NFAT au niveau cytoplasmique

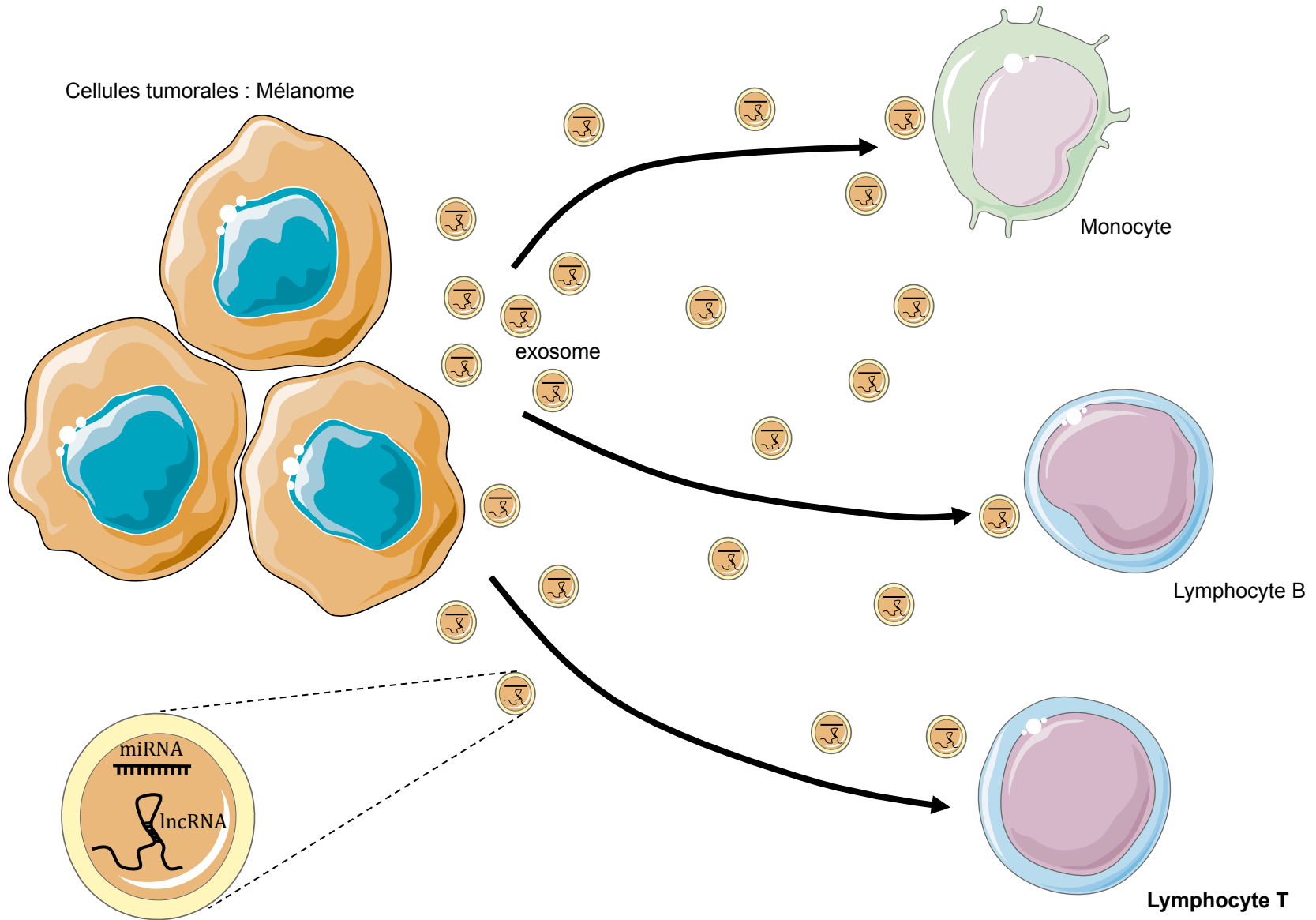


- IFNG-AS1 (TMEVPG1): facilite la transcription de IFNG en dirigeant les méthylases H3K4 sur ce locus
- Linc-MAF-4: inhibe l'expression de MAF-4, GATA3 et IL4 en dirigeant LSD1 et EZH2 (H3K27me3) sur le gène MAF-4
- GATA3-AS1
- FLVCR2: régule BATF ? (Antisens)
- lncRNA-CD244: activé par CD244 et inhibe l'expression de IFNG et TNF (H3K27me3)
- Nombreux miRNAs : miR17~92, miR182, miR184...

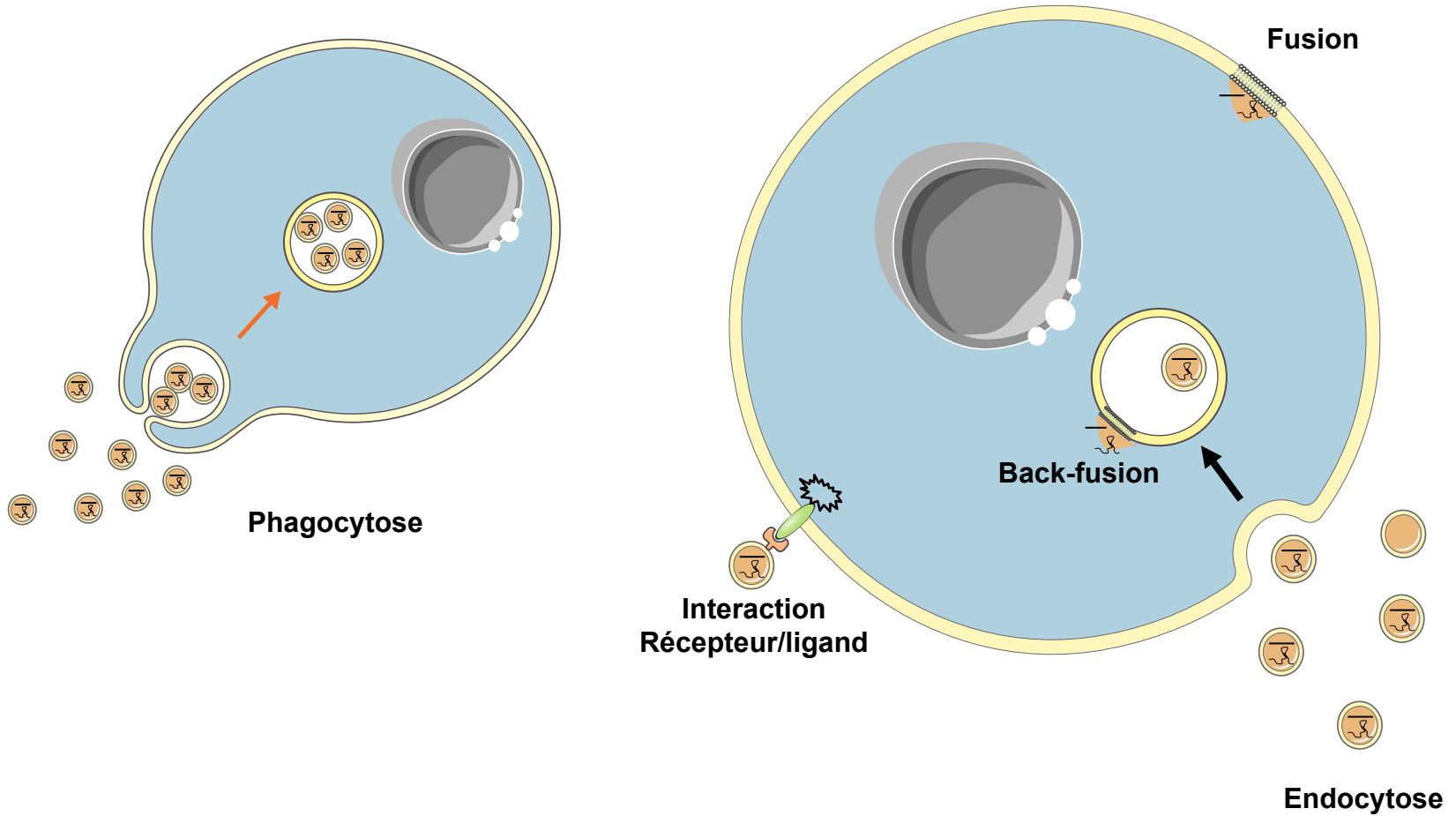
Exosomes tumoraux (TEX, Tumor-derived exosomes)



Influence des exosomes sur la réponse T anti-tumorale

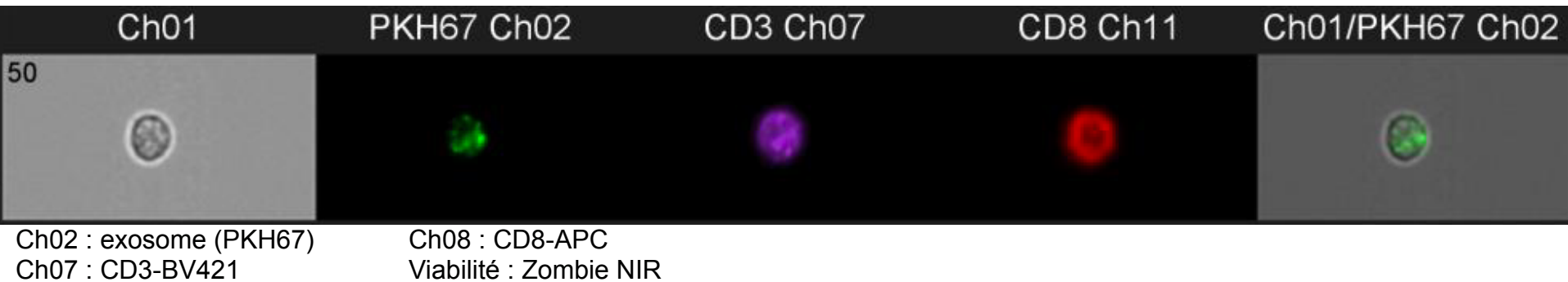


Exosomes : capture par les cellules cibles

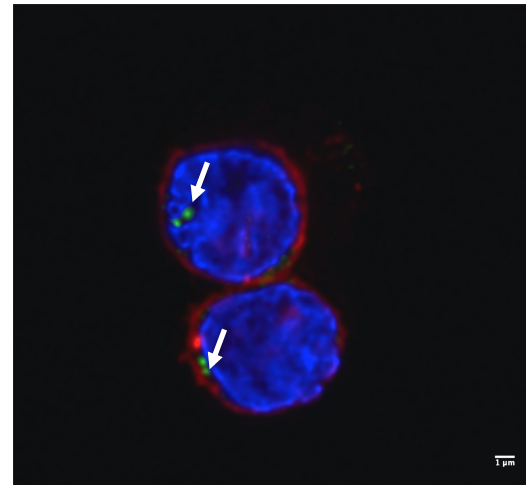
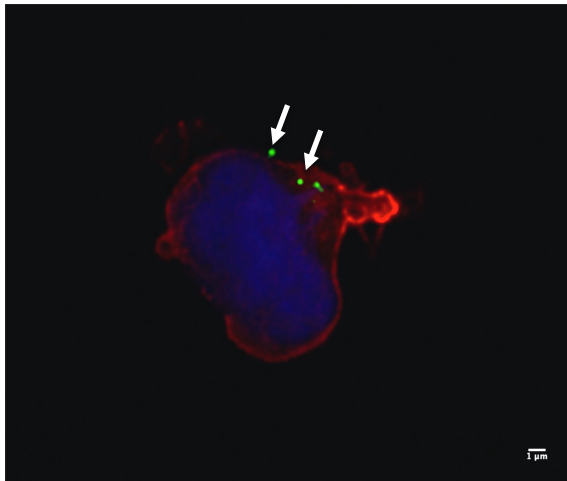


Lymphocytes T : cibles des TEXs ?

● Amnis ImageStreamX



● Microscopie confocale

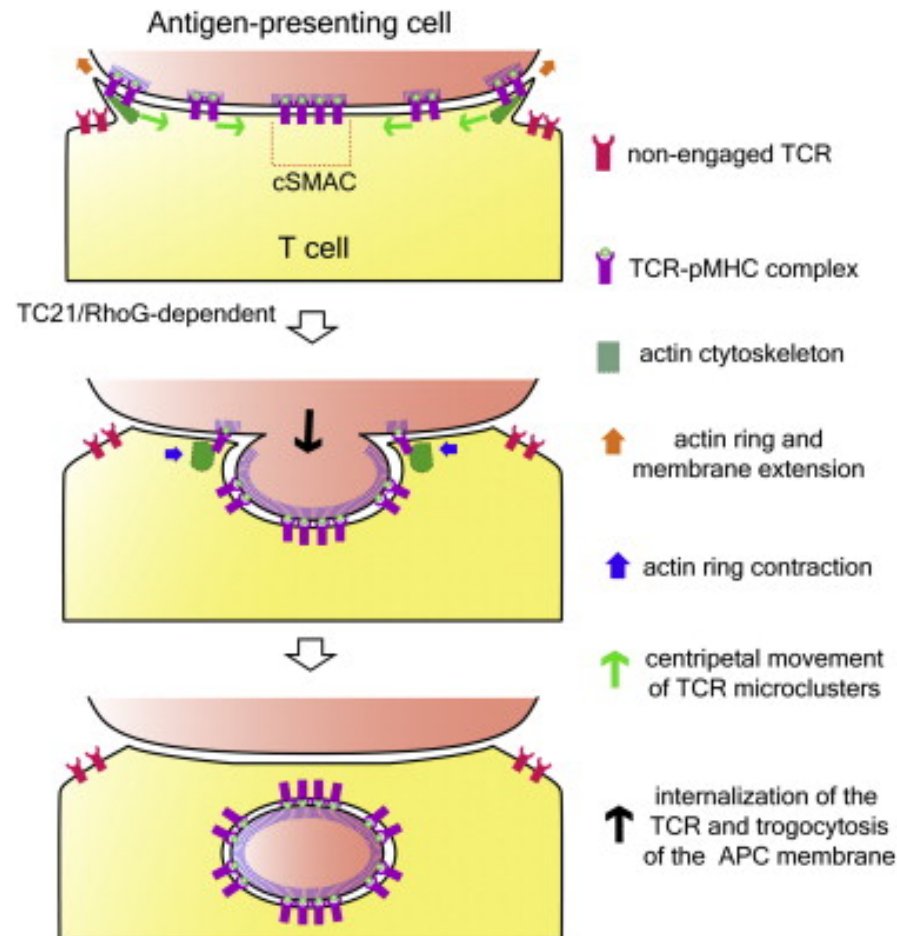


Exosome : PKH67
Membrane : WGA-647
Noyau : Hoechst

➤ Les lymphocytes T sont capables d'internaliser les exosomes du mélanome

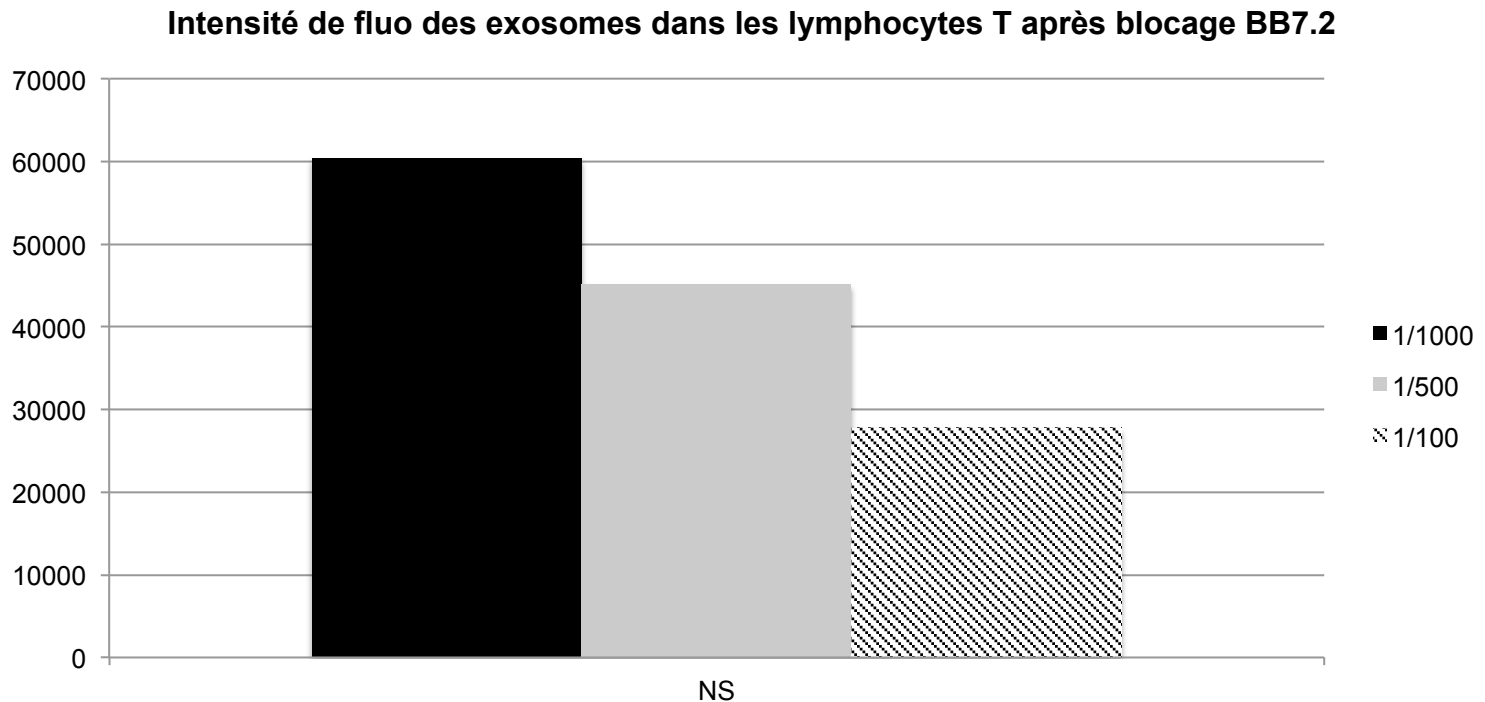
Hypothèse

- L'internalisation passe par une reconnaissance spécifique TCR/CMH-peptide



Interaction spécifique entre les lymphocytes et les exosomes

● Blocage HLA-A2

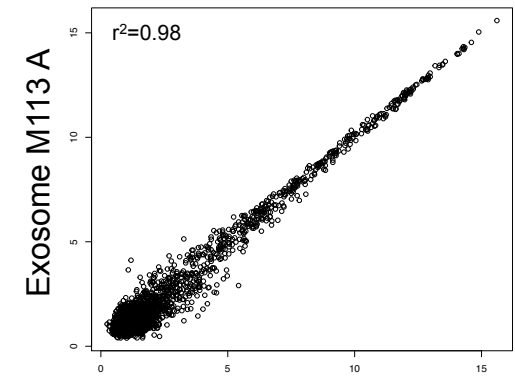
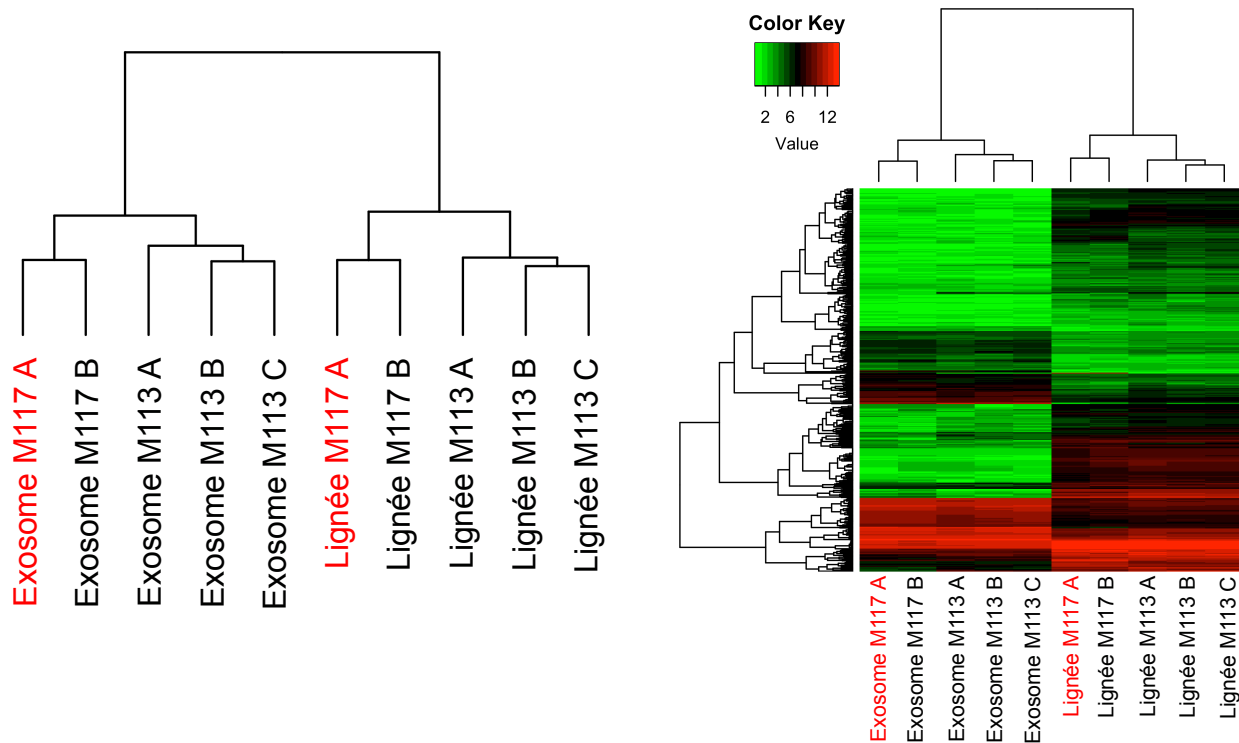


- Les exosomes entrent dans les LT, au moins en partie, *via* une interaction TCR/CMH-peptide

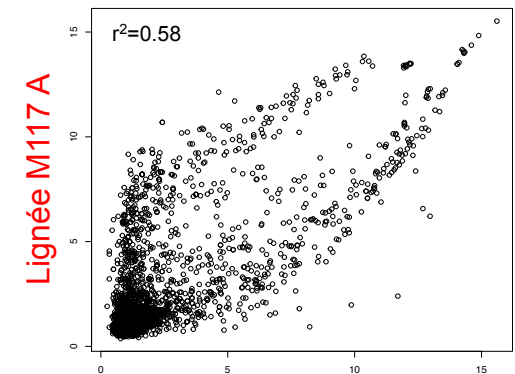
Contenu en ARN non codants des exosomes de mélanome

- Puce miRNA 4.0 Affymetrix

- Exosomes de 2 lignées de Mélanome : M117 et M113
- Enrichissement en miRNAs (x10)
- Classification hiérarchique :



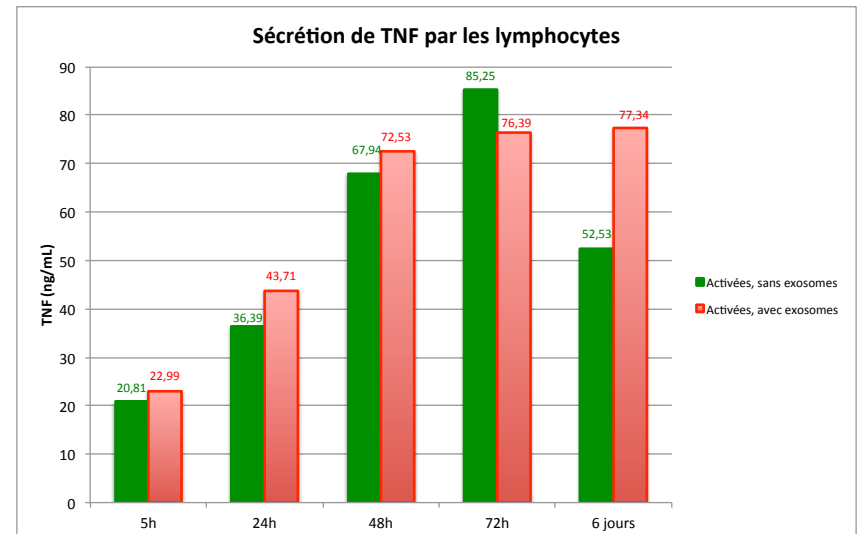
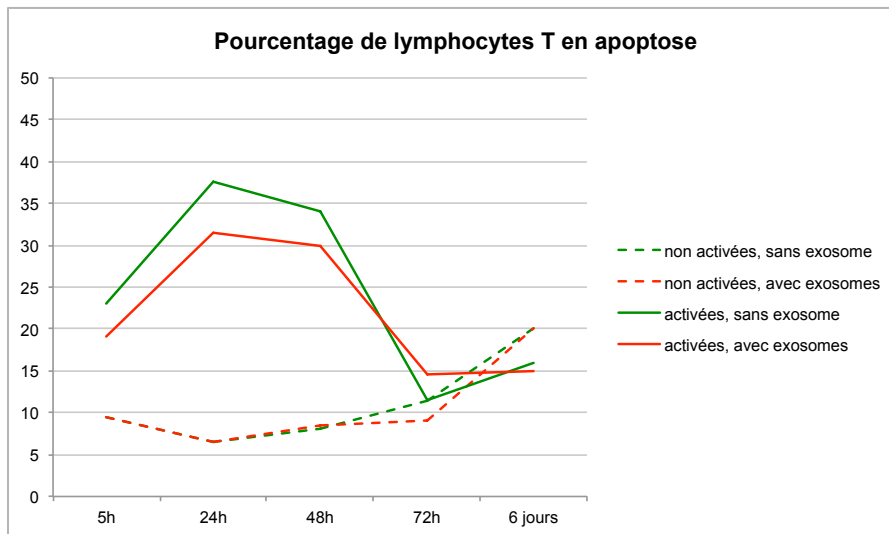
Exosome M117 A



Exosome M117 A

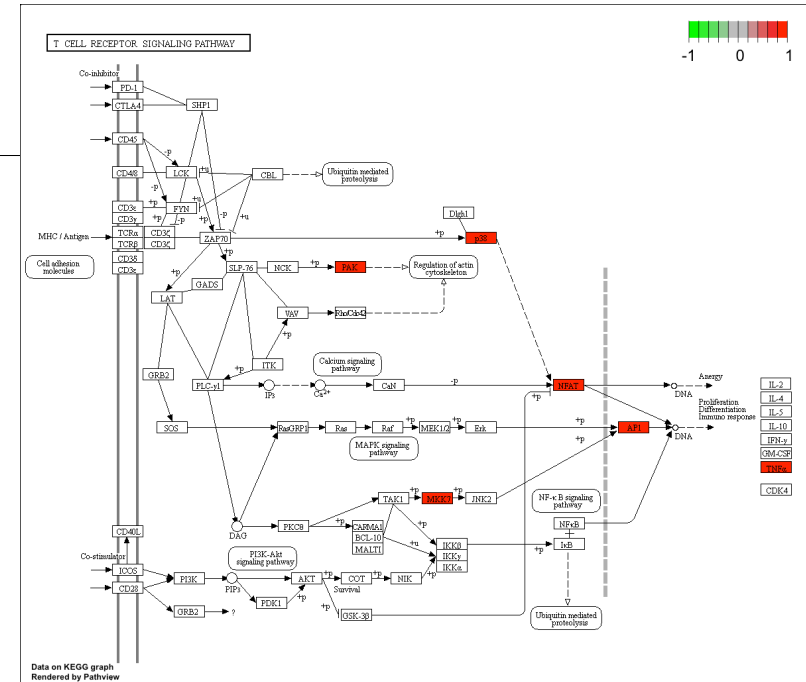
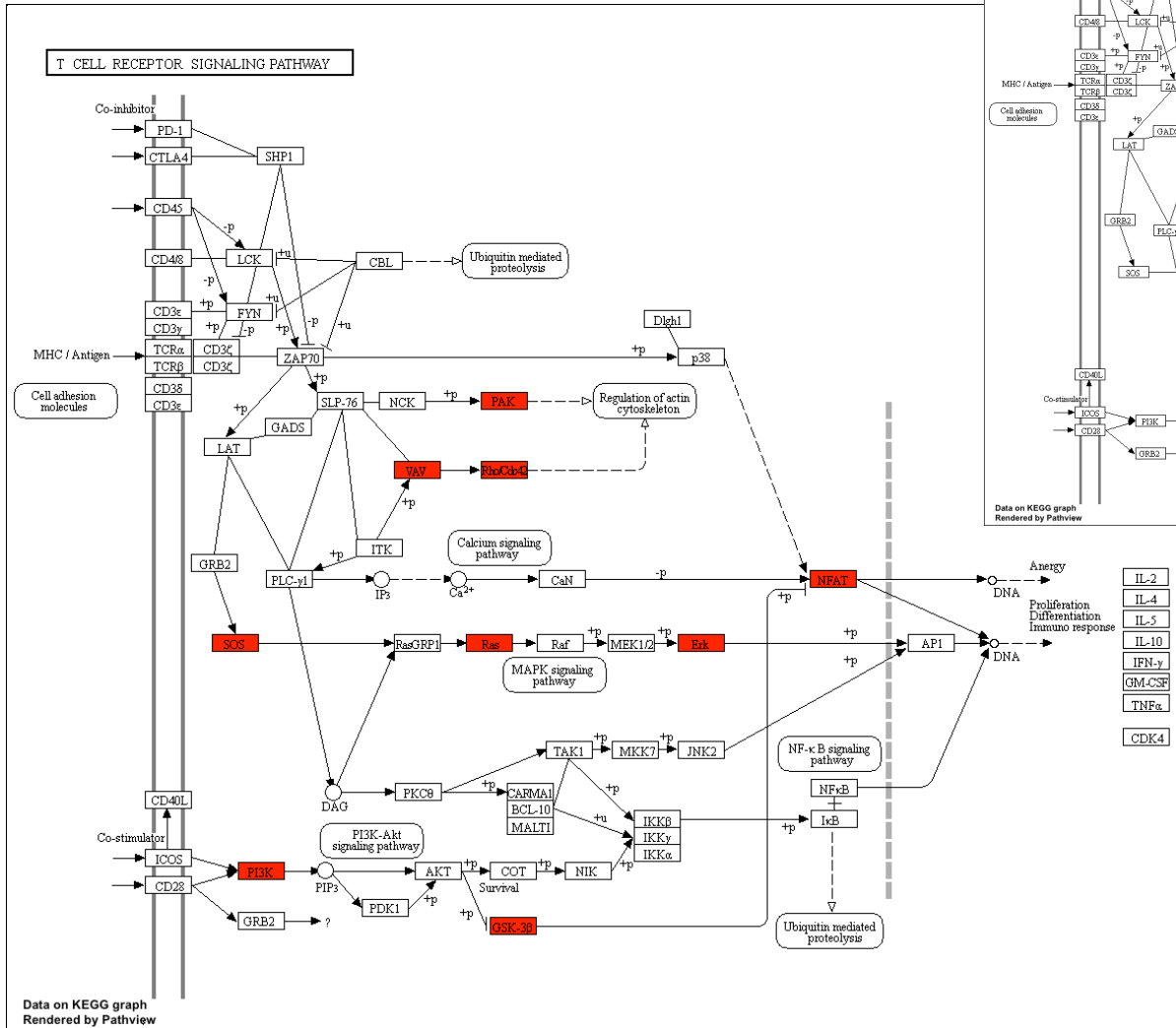
Contenu en miRNA des exosomes de mélanome

- 654 miRNAs sont différentiellement représentées entre les exosomes et leurs cellules mères ($p < 0.05$)
- 216 miRNAs sont enrichies dans les exosomes :
 - miR1246, miR1292, miR1228, miR504, miR638, miR204, miR1233, miR92b... : surexprimé dans les tumeurs
 - **miR122, miR149** : « T cell receptor signaling pathway », « Melanoma », « Apoptosis »



Contenu en miRNA des exosomes de mélanome

miR122 et miR149



MERCI !

- **Equipe 3 CRCNA**

Virginie Vignard

Nathalie Labarrière

Laetitia Florenceau

Tiphaine Parrot

Agnès Fortun

- **Pateforme Micropicell**

Steven Nedellec

- **Plateforme Cytocell**

Nadège Marec

Juliette Desfrançois



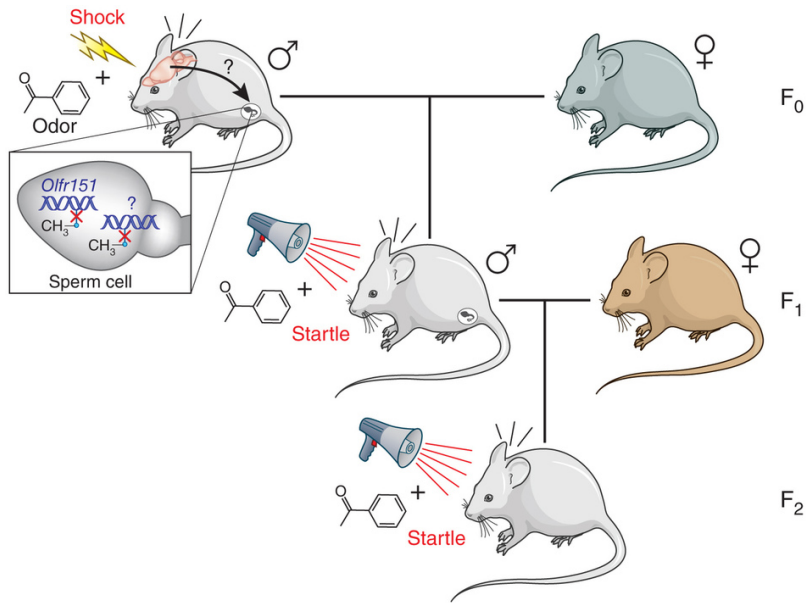
Comité de Loire-Atlantique
LIGUE CONTRE LE CANCER

Contenu en miRNA des exosomes de mélanome

- 654 miRNAs sont différentiellement représentées entre les exosomes et leurs cellules mères ($p < 0.05$)
- 216 miRNAs sont enrichies dans les exosomes
 - miRNA enrichment analysis and annotation :
 - **mir122** : T cell receptor signaling pathway, Melanoma
1668 cibles potentielles
Enrichment analysis pathway : GO 0046631 « alpha beta T cell activation » $p = 0.032$
 - **mir149** : T cell receptor signaling pathway, Melanoma
917 cibles potentielles
Enrichment analysis pathway : GO 0002768 « Immune Response Regulating Cell Surface »
 $p = 0.005$

Exosomes et ARNs non codants

- Comment un stress, touchant principalement l'axe HPA, peut aussi induire des modifications épigénétiques dans les gamètes ?



Moshe Szyf 2014
Dias and Ressler 2014

