

# Atlas, un projet titanesque autour du lymphome

*Mieux comprendre et caractériser les lymphomes les plus courants pour apporter des solutions thérapeutiques : telle est l'ambition d'Atlas, un projet de grande ampleur mêlant acteurs privés et publics. Deux équipes Inserm du Centre d'immunologie de Marseille-Luminy, sous tutelle Inserm, CNRS et Aix-Marseille Université, y participent. L'une est dirigée par Sandrine Roulland et Bertrand Nadel. Les deux chercheurs expliquent les particularités de ce projet unique.*



► **Sandrine Roulland et Bertrand Nadel**

---

Chercheurs, Centre d'immunologie de Marseille-Luminy,  
équipe Instabilité génomique et hémopathies humaines

---

### En quoi consiste Atlas ?

**Bertrand Nadel** : L'objectif d'Atlas est, d'une part, de mieux décrypter l'hétérogénéité des lymphomes – c'est-à-dire les cancers du système lymphatique dans lequel circulent les cellules du système immunitaire – afin d'identifier des biomarqueurs permettant de faire un pronostic fiable. D'autre part, il s'agit de caractériser les clones précurseurs, également nommés « cellules souches cancéreuses », qui peuvent donner naissance à des cellules qui sont à l'origine des rechutes. Enfin, Atlas ambitionne de définir de nouvelles cibles thérapeutiques.

**Sandrine Roulland** : Nous nous intéressons aux deux sous-types de lymphomes les plus fréquents : le lymphome folliculaire et le lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB). Le premier est indolent, c'est-à-dire qu'il évolue dans 80 % des cas de manière lente et progressive sur plusieurs années et est particulièrement sujet aux rechutes. Parmi les lymphomes folliculaires, certains peuvent se transformer en LDGCB. Il s'agit du sous-type le plus fréquent, et malheureusement, le plus agressif. Il est généralement associé à un mauvais pronostic.

### Qu'est-ce qui a motivé le lancement du projet ?

**B. N.** : Nous travaillons sur l'oncogenèse du lymphome folliculaire depuis plus de 20 ans. C'est une entité extrêmement hétérogène dans sa présentation clinique, sa réponse à la thérapie, son évolution « asymptomatique » sur plusieurs dizaines d'années, l'ensemble des mutations de la tumeur (le paysage oncogénique), ses caractéristiques fonctionnelles et sa dynamique cellulaire. L'hétérogénéité ne se retrouve pas seulement entre patients, mais aussi au sein de la tumeur d'un même patient. Il y a quelques années, il nous est paru évident que l'analyse, notamment fonctionnelle, du *bulk* tumoral, c'est-à-dire de l'ensemble des cellules formant la masse tumorale, n'était plus appropriée. Pour comprendre leur fonction dans leur hétérogénéité, il était devenu nécessaire d'analyser ces lymphomes cellule par cellule, via la technologie dite « en cellule unique » (*single cell*).

Le moment était propice car Pierre Milpied, qui dirige aujourd'hui une équipe Inserm au Centre d'immunologie de Marseille-Luminy et est également partenaire du projet Atlas, revenait alors d'un post-doc aux États-Unis, au cours duquel il s'était familiarisé avec cette technologie. Nous disposions donc des connaissances scientifiques et du savoir-faire technologique pour nous engager dans le décryptage du lymphome – par le prisme de l'analyse dynamique et fonctionnelle en cellule unique.

### Quelle est la particularité de cette technologie ?

**S. R.** : La technologie *single cell* microfluidique utilisée par l'équipe permet d'analyser jusqu'à 10 000 cellules en une seule expérience. Elle fournit un résultat transcriptomique – c'est-à-dire qu'elle permet de connaître les gènes exprimés – pour chaque cellule individuellement, plutôt que de fournir une moyenne de l'ensemble de la tumeur. Ainsi, nous sommes capables de collecter une quantité nettement plus importante de données à une échelle bien plus petite, ce qui offre une analyse beaucoup plus fine de la tumeur et de son environnement. Nous travaillons sur des cellules vivantes – plus précisément des suspensions ganglionnaires – que nous séparons individuellement avant analyse, ce qui permet de connaître le niveau d'expression de chaque gène au sein de chaque cellule. En outre, pour un lymphocyte B, nous analyserons l'évolution du répertoire antigénique, c'est-à-dire son récepteur de surface, en lien avec le transcriptome de la cellule. Ainsi, nous espérons détecter des données permettant de prédire d'éventuelles rechutes du patient et l'agressivité du cancer.

En analysant toutes les cellules vivantes d'un échantillon ganglionnaire, nous nous intéressons aussi au microenvironnement tumoral, c'est-à-dire aux cellules qui entourent la tumeur. C'est important, car ces cellules communiquent avec la tumeur en permanence. Elles peuvent également être recrutées et rééduquées par les cellules du lymphome, qui en tirent un avantage. Enfin, les cellules du microenvironnement peuvent sécréter des facteurs (cytokines, chimiokines) ou établir des interactions qui contribuent à la prolifération de la tumeur. La tumeur, en retour, peut induire le développement de cellules qui empêchent le système immunitaire d'agir. L'un des principes de l'immunothérapie est d'ailleurs de changer les propriétés fonctionnelles de ces cellules dans le but de restaurer l'immunité antitumorale naturelle du corps.

### Cette nouvelle technologie doit apporter son lot de défis...

**B. N.** : En 2015, quand nous avons commencé à tester l'analyse par cellule unique, cette technologie n'était pas facile à utiliser. Une longue période de transition a été nécessaire pour adapter la technologie et les pipelines d'analyse bioinformatique à nos questions. Depuis, les développements se sont accélérés. Je n'ai jamais vu une technologie évoluer aussi vite ! Le temps de mettre en place les dernières avancées technologiques au laboratoire, des améliorations considérables avaient été publiées et nous obligeaient à remettre en question notre approche. Pour un programme de l'ampleur d'Atlas, il est pourtant nécessaire de fixer la méthodologie et l'approche technologique une bonne fois pour toute.

« La technologie *single cell* microfluidique permet d'analyser jusqu'à 10 000 cellules en une seule expérience »

Celles-ci doivent être constantes sur toute la durée du projet, afin de pouvoir les déployer pour traiter les données en haut débit. Outre les questions méthodologiques, de nouvelles interrogations surgissent concernant le stockage, le partage et le traitement des données. Avec environ 2 000 cellules par échantillon et 2 000 gènes par cellule, nous traitons une échelle d'analyse de 800 millions de points d'analyse. C'est une échelle de *big data* dont nous ne sommes pas familiers. Il est donc nécessaire de développer les solutions techniques au fur et à mesure de l'avancée du projet.

**S. R. :** Nous avons créé tout un pan d'analyse bioinformatique indispensable à l'exploitation de ces données, afin de leur donner un sens permettant de caractériser l'hétérogénéité des tumeurs que l'on étudie. Pour cela, notre équipe comporte quasiment autant de bioinformaticiens que de biologistes. C'est un projet très intégré, dont nous avons aussi bien développé les aspects méthodologiques qu'analytiques.

**B. N. :** Aujourd'hui, il ne faut pas un bioinformaticien par équipe, mais un ou deux par projet, au sein de l'équipe ! Demain, le facteur limitant sera de trouver les bons informaticiens et de les stabiliser dans les équipes. Ils doivent être formés et recrutés en masse au niveau institutionnel.

### D'où viennent les échantillons dont vous disposez ?

**S. R. :** Ils sont principalement issus d'une banque de cellules vivantes provenant d'échantillons de lymphomes. Elle a été mise en place par l'Institut Carnot CALYM, l'un des partenaires du projet, dont notre équipe est membre. Cette collection CeVi (cellules viables) est très précieuse, car pour l'analyse en cellule unique, il faut des cellules vivantes ! Le lymphome étant une pathologie ganglionnaire solide, l'accès à des prélèvements biologiques dissociés (où les cellules sont séparées) et conservés demande une importante logistique, qui n'est pas réalisée en routine hospitalière. De plus, chaque échantillon s'accompagne d'annotations anatomopathologiques et cliniques très précieuses, par exemple sur le suivi du patient avant et après prélèvement, sur la survenue de rechute, la résistance aux traitements...

**B. N. :** Lors de nos premières expériences en cellules uniques sur quelques patients, qui ont permis d'établir la preuve du concept de l'utilité de cette approche pour répondre à nos questions, nous avons réalisé l'ampleur de ce que devait devenir le projet Atlas. Pour autant, Atlas ne se limite pas à une simple description des lymphomes par le spectre du *single cell*. Ces données vont ensuite nous permettre d'effectuer des analyses afin de répondre aux questions précises que nous avons définies, mais la façon dont nous collectons ces données est non biaisée, c'est-à-dire sans a priori sur les réponses attendues.

### Quels sont les différents partenaires de ce projet ?

**B. N. :** Deux équipes Inserm du Centre d'immunologie de Marseille-Luminy sont impliquées, la nôtre et celle de Pierre Milpied, en collaboration avec un partenaire industriel : Celgene [acquis depuis par Bristol-Myers Squibb, ndlr.]. C'est avec le Canceropôle Provence-Alpes-Côte d'Azur que le projet a été initié, grâce à un programme de financement de l'innovation (EmA). Il a pour objectif de réduire les risques inhérents aux premières étapes de collaboration entre un laboratoire académique et un industriel, via un investissement financier pour la phase de preuve de concept. Le montage contractuel public-privé était très innovant, et notre laboratoire a pu bénéficier de toute l'expertise et la professionnalisation de l'institut CALYM (consortium pour l'accélération de l'innovation et de son transfert dans le domaine du lymphome en partenariat industriel) et d'Inserm Transfert dans l'accompagnement, la contractualisation et le déploiement du projet après la preuve de concept. J'ai beaucoup apprécié la coopération inédite de tous ces acteurs, et voudrais souligner que la réussite d'Atlas démontre le bénéfice du rapprochement des trois différentes structures – une cellule de valorisation institutionnelle, un canceropôle, un institut Carnot – sous l'égide du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation et de celui des Solidarités et de la Santé. La synergie de ces acteurs a été un atout majeur pour la mise en place de ce grand programme de recherche fondamentale et translationnelle public-privé et doit nous encourager à formaliser cette approche.

### Est-ce courant que les industriels s'engagent aussi loin en amont des projets ?

**B. N. :** Non, c'est assez rare, mais l'acculturation réciproque est aujourd'hui acquise : l'intégration des segments découverte-innovation-transfert apparaît aujourd'hui comme une nécessité stratégique à tous les acteurs, académiques comme industriels. Le partenaire industriel prend part au risque de la recherche précoce tandis que le partenaire académique s'engage avec lui dans les phases translationnelles. C'est ce que j'appelle l'*open innovation* : les deux partenaires public et privé impliquent des ressources humaines et intellectuelles, apportent les expertises propres à leur sphère de compétence, échangent, s'enrichissent... et récoltent tous deux les fruits de ce partenariat. |

## CALYM

Consortium pour l'accélération de l'innovation et de son transfert dans le domaine du lymphome en partenariat industriel