



## MASTER 1/2 BIOINFORMATIQUE ANNEE 2023-2024

**Titre du sujet de stage :**

L'impact du ciblage de la voie de signalisation IL-15 topiques sur le phénotype des Trm cutanés (développement d'un pipeline d'analyse de données de single cell RNAseq)

**Nom, adresse de l'Unité d'accueil / Nom du responsable de l'Unité :**

CIRI, INSERM U1111-CNRS UMR5308\_université Lyon 1-ENS Lyon (Directeur : FL Cosset)

**Nom, adresse de l'Equipe d'accueil/ Nom, tel, adresse e-mail du responsable d'Equipe à contacter :**

**Laboratoires d'accueil :**

Immunité de l'épiderme et allergie (Responsable Marc Vocanson)

**Nom de l'Encadrant :**

Lefevre Marine-Alexia, MD/PhD; [marine-alexia.lefevre@inserm.fr](mailto:marine-alexia.lefevre@inserm.fr) ; tél : 04 37 28 23 43 (possibilité de co-encadrement par le BIBS à discuter)

Vocanson Marc, PhD; [marc.vocanson@inserm.fr](mailto:marc.vocanson@inserm.fr) ; tél : 04 37 28 23 48

*Nous recherchons un étudiant de M1/M2 bio-informatique pour établir un workflow complet d'analyse de scRNAseq au sein d'une équipe pluridisciplinaire de recherche dans le domaine de l'immunologie/allergie cutanée.*

*A l'issue de ce stage, nous proposons également de poursuivre sur un travail de thèse (avec un travail sur des jeux de données de bulk RNAseq, scRNAseq couplé à du TCR seq et de la transcriptomique spatiale).*

**Résumé du Sujet de stage :**

Les lymphocytes T résidents mémoire (Trm) s'accumulent et persistent à long terme dans les organes et tissus de l'organisme.

Dans la peau, les Trm comprennent des sous-ensembles de cellules T CD8<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup>. Ils sont généralement identifiés par l'expression à leur surface du récepteur CD69, du CD103 et, pour une fraction non négligeable, du CD49a.

Les Trm se forment lors de la résolution d'une infection ou d'une inflammation cutanée. Ils dérivent de précurseurs qui acquièrent un programme transcriptionnel central de "résidence tissulaire",

inhibant leurs propriétés circulatoires et augmentant leurs interactions avec les cellules environnantes. Les Trm adaptent également leur métabolisme au microenvironnement cutané.

Une fois établis dans la peau, ces cellules jouent un rôle majeur dans la protection tissulaire locale contre les infections récurrentes ou le développement de cellules néoplasiques. A l'inverse, ces cellules peuvent également avoir un rôle pathologique dans de nombreuses maladies auto-immunes, inflammatoires ou allergiques.

C'est le cas de l'eczéma de contact allergique (ECA), une maladie médiée par les cellules T, fréquente dans les pays occidentaux, induite par l'exposition répétée des individus à des allergènes chimiques présents dans notre environnement. Les cellules Trm sont responsables des récurrences, de la chronicité et de la sévérité de la maladie. Elles orchestrent le développement de poussées précoces et intenses d'ECA (également appelées exacerbations) sur les sites cutanés précédemment affectés et guéris. Fait important, les Trm augmentent la réactivité des individus aux substances chimiques présentes dans leur environnement. Ils favorisent les réactions de poussée à des doses d'allergène chimique, classiquement inoffensives sur une peau dépourvue de Trm. Il y a donc un intérêt majeur à développer de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant les Trm pour entraver le développement de cette maladie chronique.

Récemment, la cytokine IL-15 a été identifiée comme un facteur clé dans la formation et le maintien des TRM dans l'épiderme. Ainsi, nous émettons l'hypothèse que le ciblage de la voie de signalisation IL-15 pourrait prévenir la formation de Trms cutanés et limiter les poussées d'ECA. Dans cet objectif, nous avons utilisé un modèle murin d'ECA (induit au 2,4-dinitrofluorobenzène), afin d'étudier l'impact d'un traitement par anticorps monoclonal ciblant l'IL15 R $\beta$  (injecté à différent temps) sur le phénotype des Trm. Pour ce faire, des analyses de single-cell RNAseq ont été conduites.

Nous disposons de données sous forme de matrices de comptes pour 6 conditions (Trm naïfs, Trm à 1 mois, Trm à 1 mois avec traitement, Trm à 6 mois, Trm à 1 an). A partir de ces données émergent 2 questions biologiques :

- Impact du traitement sur le phénotype des Trm ?

- Evaluation de la modification phénotypique des Trm au cours du temps (en absence de nouveau challenge ou de traitement).

L'objectif de ce projet sera donc d'établir un workflow complet d'analyse de single cell RNAseq à partir d'une matrice de comptes :

- Le logiciel R (ex : Seurat, ggplot...) sera utilisé pour l'exploration des données :
  - o Contrôle qualité
  - o Normalisation
  - o Visualisation des données (ex : PCA, UMAP, tSNE)
  - o Clustering et annotation de clusters
  - o Analyse différentielle
  - o Analyse de gene set : en utilisant le package AUCell, et en interrogeant les bases de données Gene ontology, Kegg, Reactome
  - o *Petit plus : Réseaux de régulation des gènes, inférence de trajectoire cellulaire*

L'objectif biologique est de mettre en évidence l'impact du traitement sur le phénotype des Trm.

Le but étant de générer un pipeline d'analyse réutilisable dans les suites pour d'autres jeux de données, nous souhaiterions donc que les étudiants produisent un workflow fonctionnel avec un script complet en R markdown.

### **Publications d'intérêt :**

- Luecken MD, Theis FJ. Current best practices in single-cell RNA-seq analysis: a tutorial. Mol Syst Biol. 2019 Jun 19;15(6):e8746
- Gamradt P, Laoubi L, Nosbaum A, Mutez V, Lenief V, Grande S, et al. Inhibitory checkpoint receptors control CD8+ resident memory T cells to prevent skin allergy. J Allergy Clin Immunol. 2019 Jun;143(6):2147-2157.e9
- Scheinman PL, VOCANSON M, Thyssen JP, Johansen JD, Nixon RL, Dear K, Botto NC, Morot J, Goldminz AM.. Contact dermatitis. Nat Rev Dis Primers. 2021 May 27;7(1):38.
- Schmidt JD, Ahlström MG, Johansen JD, Dyring-Andersen B, Agerbeck C, Nielsen MM, et al. Rapid allergen-induced interleukin-17 and interferon- $\gamma$  secretion by skin-resident memory CD8(+) T cells. Contact Derm. 2017 Apr;76(4):218–27.

- Mackay LK, Rahimpour A, Ma JZ, Collins N, Stock AT, Hafon M-L, et al. The developmental pathway for CD103(+)CD8+ tissue-resident memory T cells of skin. *Nat Immunol.* 2013 Dec;14(12):1294–301.
- Gadsbøll A-SØ, Jee MH, Funch AB, Alhede M, Mraz V, Weber JF, et al. Pathogenic CD8+ Epidermis-Resident Memory T Cells Displace Dendritic Epidermal T Cells in Allergic Dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2020 Apr;140(4):806-815.e5.
- Richmond JM, Strassner JP, Zapata L, Garg M, Riding RL, Refat MA, et al. Antibody blockade of IL-15 signaling has the potential to durably reverse vitiligo. *Sci Transl Med.* 2018 18;10(450).