

THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : « *Immunologie* »

Par

Alexandre MAYE

Identification de phagocytes mononucléés humains glycolytiques et pro-tumoraux au sein du micro-environnement tumoral

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 19 mai 2026

Unité de recherche : Centre de Recherche Translationnelle en Transplantation et Immunologie

Rapporteurs avant soutenance :

Arnaud MILLET, Directeur de Recherche, CEA de Grenoble

Laurent YVAN-CHARVET, Directeur de recherche, INSERM, Université Côte d'Azur

Composition du Jury :

Président : **Prénom Nom** **Fonction et établissement d'exercice (8) (à préciser après la soutenance)**

Examineurs : Christophe BLANQUART, Directeur de recherche, CNRS, Nantes Université

Dir. de thèse : Aurélie MOREAU, Chargé de recherche, INSERM, Nantes Université

Invité(s)

Pascale JEANNIN, Professeur des universités - praticien hospitalier, CHU Angers, Université d'Angers

Titre : Identification de phagocytes mononucléés humains glycolytiques et pro-tumoraux au sein du micro-environnement tumoral

Mots clés : Micro-environnement tumoral, macrophages associés aux tumeurs, immunométabolisme

Résumé : Les phagocytes mononucléaires (MNP), en particulier les macrophages (Mφ), sont des cellules clés dans le microenvironnement tumoral, car certains MNP pro-tumoraux peuvent favoriser la croissance tumorale. Dans le cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC), ces cellules sont associées à un mauvais pronostic. Il est donc important de les caractériser afin de développer des stratégies pour les cibler.

Des études *in vivo* chez la souris suggèrent que les MNP tumoraux sont des cellules hautement glycolytiques et que ce métabolisme spécifique favorise leurs fonctions pro-tumorales. Ces études concordent avec nos données obtenues *in vitro* sur les MNP tolérogènes (Tol-MNP) dérivés de monocytes humains. Nous avons démontré que les Tol-MNP sont des cellules hautement glycolytiques (et oxydatives) par rapport aux autres MNP différenciées *in vitro*. Il est intéressant de noter que ce métabolisme contribue à leur fonction suppressive, car ces cellules peuvent inhiber la prolifération des lymphocytes T CD4+ grâce à leur forte sécrétion de lactate. Nous avons donc émis l'hypothèse que les sous-populations de MNP pro-tumorales humaines pourraient être hautement glycolytiques et que ce métabolisme modulerait leur immunogénicité.

Afin d'étudier cette hypothèse, ce projet vise à identifier et à caractériser les sous-populations de MNP glycolytiques et pro-tumorales provenant de tumeurs de patients atteints de CPNPC, en utilisant trois approches. Tout d'abord, l'analyse des données publiques de single-cell-RNA-seq a permis d'identifier trois populations de macrophages tumoraux présentant un métabolisme glycolytique élevé et une faible expression des gènes associés aux voies de signalisation pro-inflammatoires. Le deuxième axe consistait à étudier, par cytométrie en flux spectrale, les différentes populations de MNP provenant d'échantillons tumoraux humains frais prélevés sur des patients atteints d'un CPNPC non traité. Les premières analyses par cytométrie en flux ont mis en évidence plusieurs sous-populations de macrophages enrichies dans les tumeurs. Enfin, ces différentes sous-populations ont été isolées par tri cellulaire et analysées par mini-bulk-RNA-seq afin d'explorer leur transcriptome et de valider leurs profils métaboliques et fonctionnels.

Par la suite, l'identification et la validation de sous-populations de MNP glycolytiques pro-tumorales permettront de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant le métabolisme de ces cellules afin de moduler leur fonction.

Title : Identification of human glycolytic and pro-tumor mononuclear phagocytes within the tumor microenvironment

Keywords : tumor micro-environment, tumor associated macrophages, immunometabolism

Abstract : Mononuclear phagocytes (MNP), especially macrophages (Mφ), are key cells within the tumor microenvironment, as some pro-tumor MNP can promote tumor growth. In non-small cell lung cancer (NSCLC), these cells are associated to a poor prognosis. It is therefore important to characterize them in order to develop strategies to target them.

In vivo mouse studies suggest that tumor MNP are highly glycolytic cells, and that this specific metabolism favors their pro-tumor functions. These studies are in line with our data obtained *in vitro* on tolerogenic MNP (Tol-MNP) derived from human monocytes. We demonstrated that Tol-MNP are highly glycolytic (and oxidative) cells compared with other MNP differentiated *in vitro*. Interestingly, this metabolism contributes to their suppressive function, as these cells can inhibit CD4+ T cell proliferation through their high lactate secretion. We therefore hypothesized that human pro-tumor MNP subpopulations could be highly glycolytic, and that this metabolism would modulate their immunogenicity.

To investigate this hypothesis, this project aims to identify and characterize glycolytic and pro-tumor MNP subpopulations from tumors of NSCLC patients, using three approaches. Firstly, analysis of publicly available single-cell-RNA-Seq data has enabled the identification of three tumor Mφ populations with high glycolytic metabolism and low expression of genes associated with pro-inflammatory signaling pathways. The second axis consisted in studying, by spectral flow cytometry, the different MNP populations from fresh human tumor samples from untreated NSCLC patients. Initial flow cytometry analyses highlighted tumor-enriched macrophage subpopulations. Finally, these different subpopulations have been isolated by cell sorting and analyzed by mini-bulk-RNA-seq in order to explore their transcriptome and validate their metabolic and functional profiles. Subsequently, the identification and validation of subpopulations of glycolytic pro-tumor MNPs will allow to develop new therapeutic strategies targeting the metabolism of these cells in order to modulate their function.