

Analyse bioinformatique des infiltrats immunitaires dans les tumeurs, en comparant le cancer du sein avec d'autres types

Gautier Stoll

Centre de Recherche des Cordeliers (Paris)

INSERM U1138, eq. Kroemer

Université Paris Descartes

Gustave Roussy

Lille, le 8 novembre 2017

Plan

- Types de données bioinformatiques
- Comment mesurer les infiltrats immunitaires → métagènes
- Exemples de résultats
 - Construction de métagènes immunitaires, leur relation avec la réponse au traitement. Stoll G, et al. 2014 Jan 1;3(1).
 - Représentation générale de la corrélation entre les infiltrats immunitaires, pour différents types de tumeurs. Stoll G, et al. Oncotarget. 2015 May 20;6(14).
 - Nécroptose, infiltrats immunitaires dans les différents types de cancer du sein. Stoll G, et al. Oncoimmunology. 2017 Apr 17;6(4).

Types de données bioinformatiques

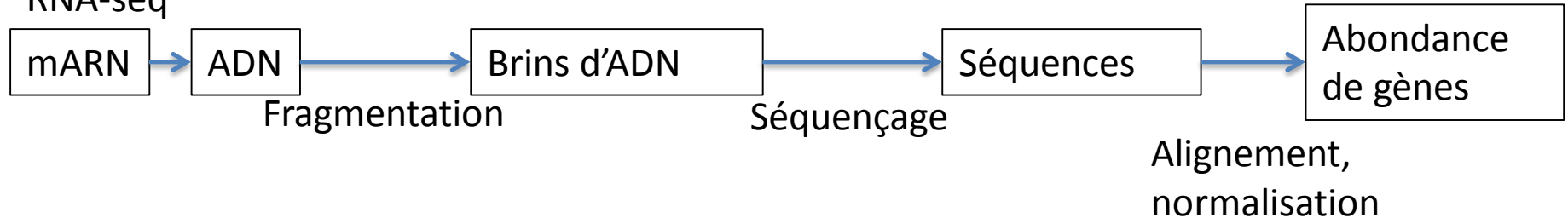
- Génomique, séquençage de l'ADN (codant, non codant, exons, etc.).
- **Transcriptomique, microarrays.**
- **Transcriptomique, RNA-seq.**
- Methylome.
- Exome.
- microARN.
- ChIP-seq.

Types de données bioinformatiques

Micro-arrays (puces)



RNA-seq



La normalisation est nécessaire à cause des biais (sensibilité des sondes/séquences, abondance d'ARN dans les échantillons).

Conséquence:

- Mesure relative du niveau d'expression
- Choix de la méthode de normalisation

Comment mesurer les infiltrats immunitaires

Anapathologie : marquage et comptage.

Transcriptomique : mesure indirecte par l'expression de gènes représentatifs d'un type de cellule immunitaire → métagène.

Construction de métagènes : mesure quantitative associée à un type de cellule immunitaire, à partir d'expression de gènes.

Différents algorithmes.

Analyses sur des données publiques, méta-analyses sur plusieurs jeux de données.

Construction de métagènes immunitaires, leur relation avec la réponse au traitement

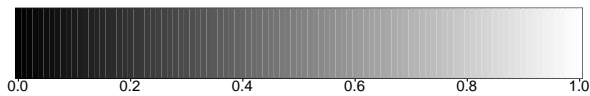
4 jeux de données de cancer du sein (TCGA : ~ 500, Bonnefoi, Hatzis, Tabchy : ~ 150)

2 jeux de données de cancer du colon, 1 jeu de données du cancer ORL.

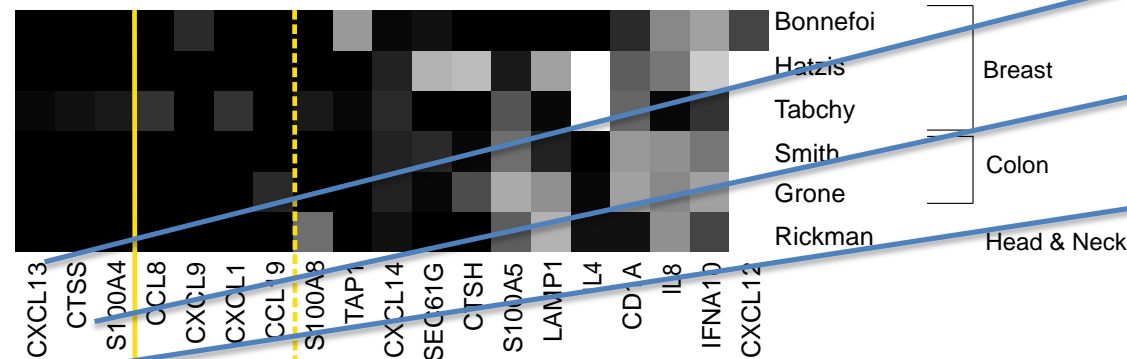
Construction des métagènes immunitaires à partir du plus grand jeu de données :

À partir de la sélection de gènes liés au système immunitaire, identification de groupes d'expression semblables (20) (clustering hiérarchique). Pour chaque groupe, détermination des poids pour chaque gène (première composante). Test de la reproductibilité sur d'autres jeux de données (bootstrap).

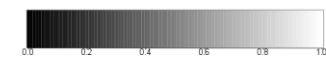
p-value of meta-gene reproducibility



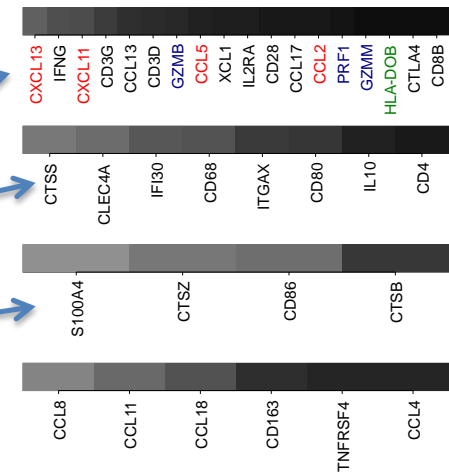
Immune system



Meta-genes components



Immune system



Résultat : identification de métagènes reproductibles. Avantage : spécificité au cancer

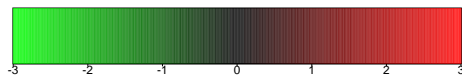
Problème : difficile à interpréter.

Construction de métagènes immunitaires, leur relation avec la réponse au traitement

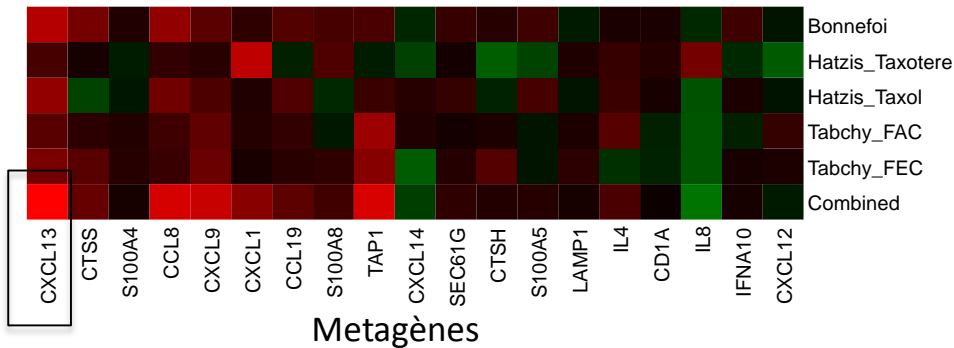
Expression différentielle des métagènes, en fonction de la réponse au traitement.

Log signé de la p-value :

- Rouge : sur-exprimés dans les répondeurs
- Vert : sous-exprimés dans les répondeurs



Immune system



Résultat : Métagène immunitaire autour de CXCL13, reproductible et associé à la réponse au traitement

Représentation générale de la corrélation entre les infiltrats immunitaires, pour différents types de tumeurs.

Jeux de données :
Pour chaque type, 1 pour la construction des métagènes, 4 autres.

Construction des métagènes immunitaires : groupes de gènes identifiés par Galon et al, composantes des gènes par première composante.

Cancer type	Cohort name	Number of samples
Melanoma	Xu	83
Melanoma	Harlin	44
Melanoma	Bogunovic	44
Melanoma	RikerMel	56
Melanoma	Talantov	45
Colon	BittColon	307
Colorectal	Smith	177
Colon	Vilar1	155
Colon	Vilar2	176
Colon	TCGA	174
Breast	TCGA	522
Breast	Bonnefoi	161
Breast	Hatzis	198
Breast	Tabchy	178
Breast	Korde	61
Lung	AdenoConsortium	462
Lung	Lee	138
Lung	Okayama	226
Lung	Raponi	130
Lung	TCGA	134

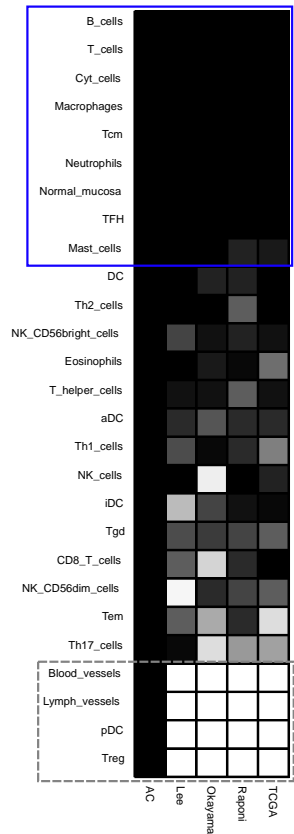
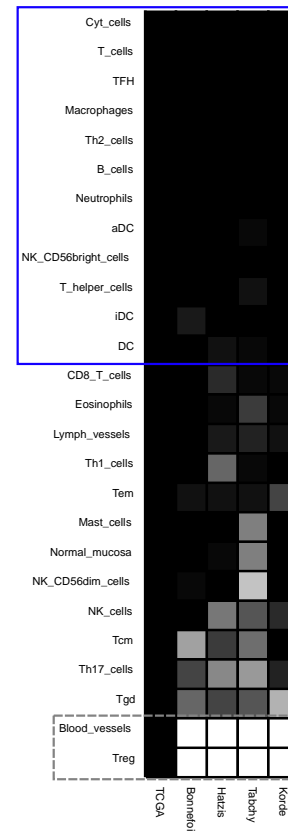
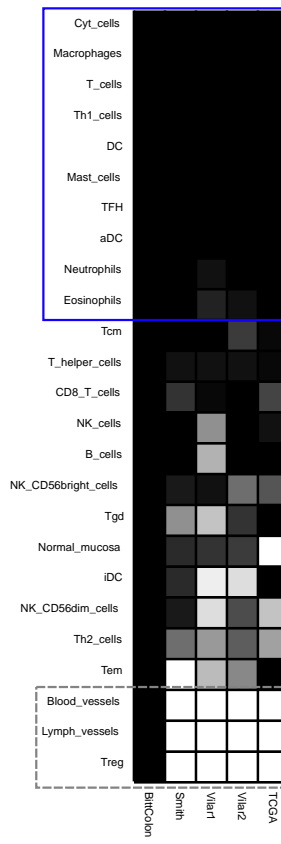
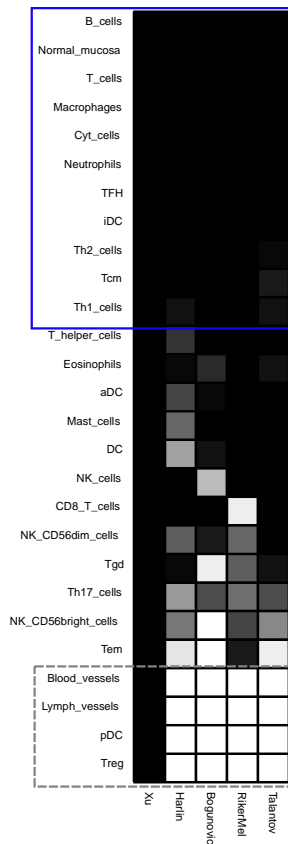
Représentation générale de la corrélation entre les infiltrats immunitaires, entre différents types de tumeurs.

Reproductibilité : A. Melanoma

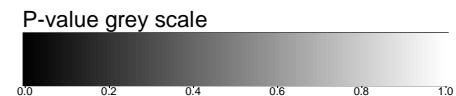
B. Colorectal carcinoma

C. Breast Carcinoma

D. Lung Adenocarcinoma



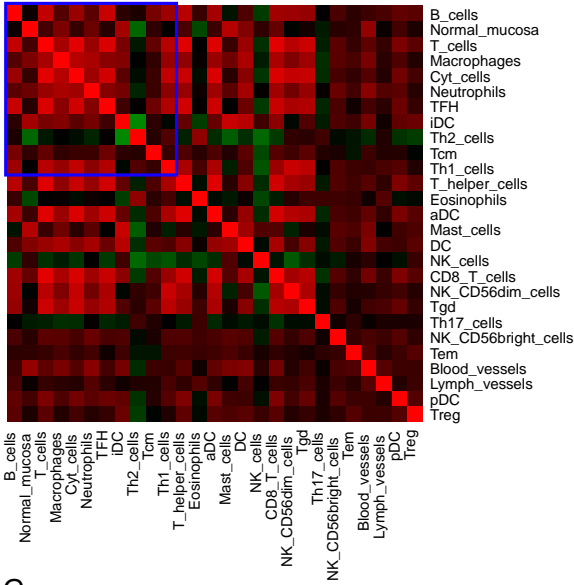
Résultat : identification de métagènes reproductibles.



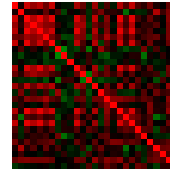
Analyse de corrélation → corrélation reproductible

Melanoma

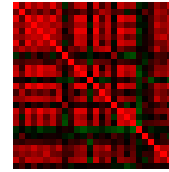
A. Xu



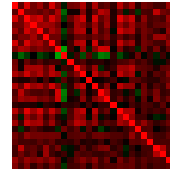
B. Harlin



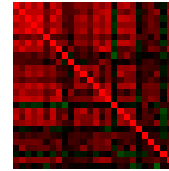
C. Bogunovic



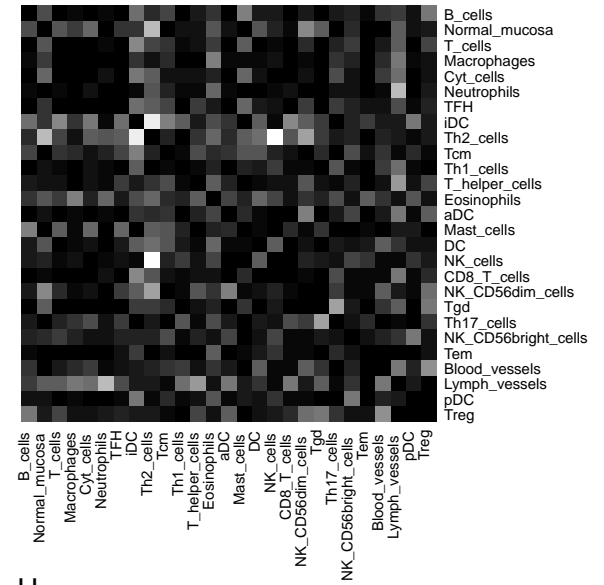
D. RikerMel



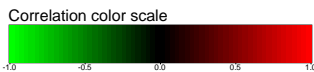
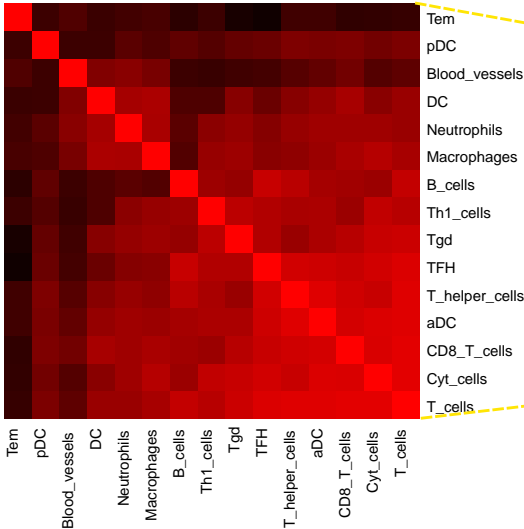
E. Talantov



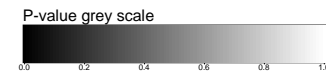
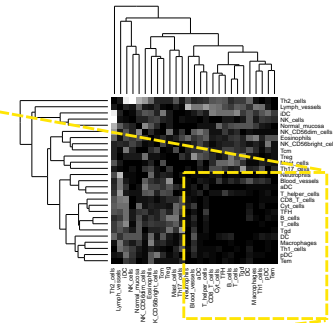
F. Correlation Reproducibility



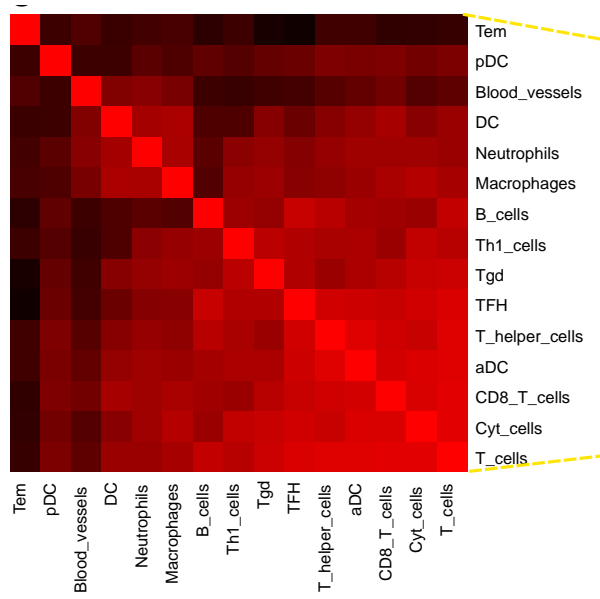
G



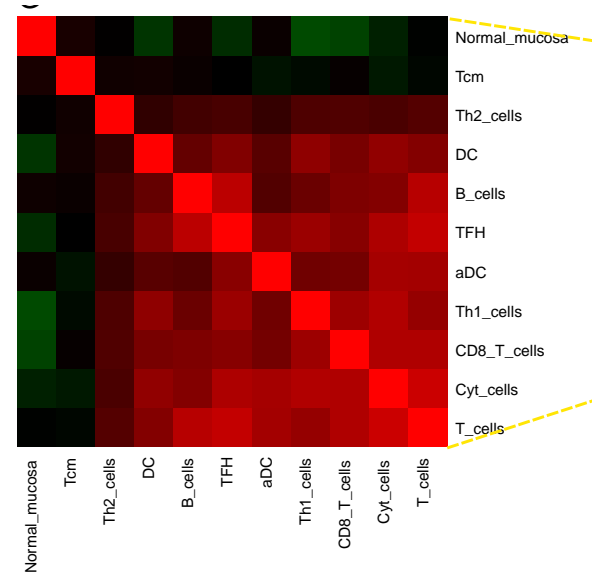
H



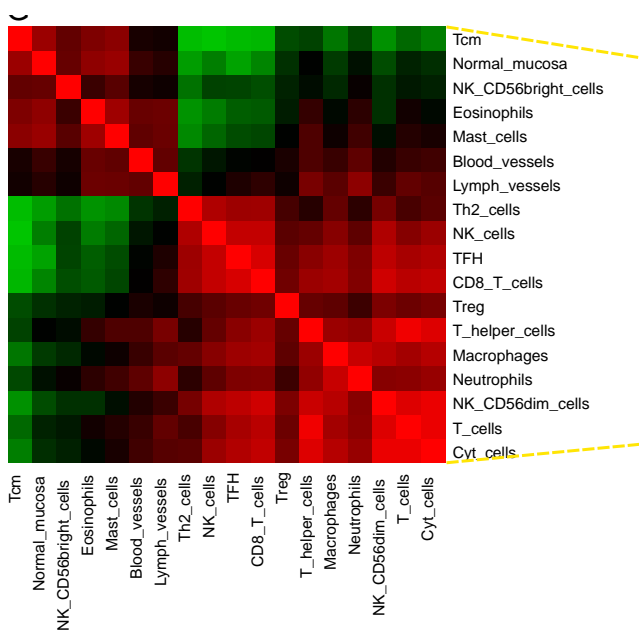
Mélanome



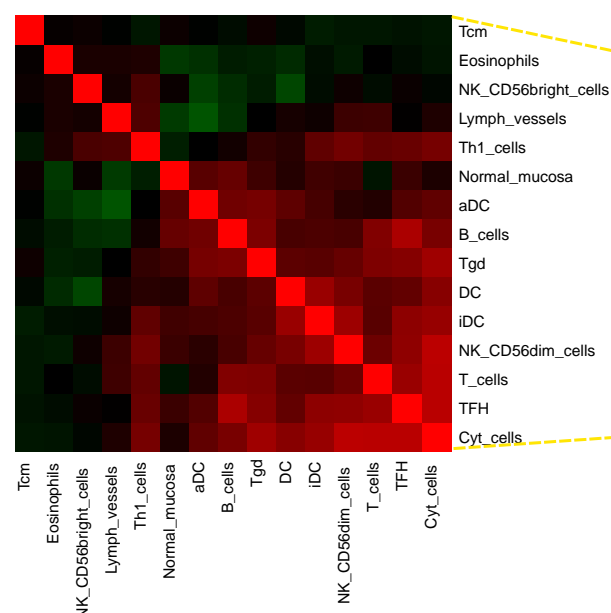
Colorectal



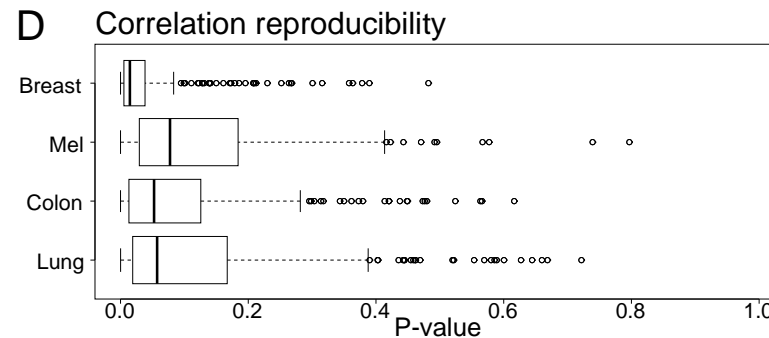
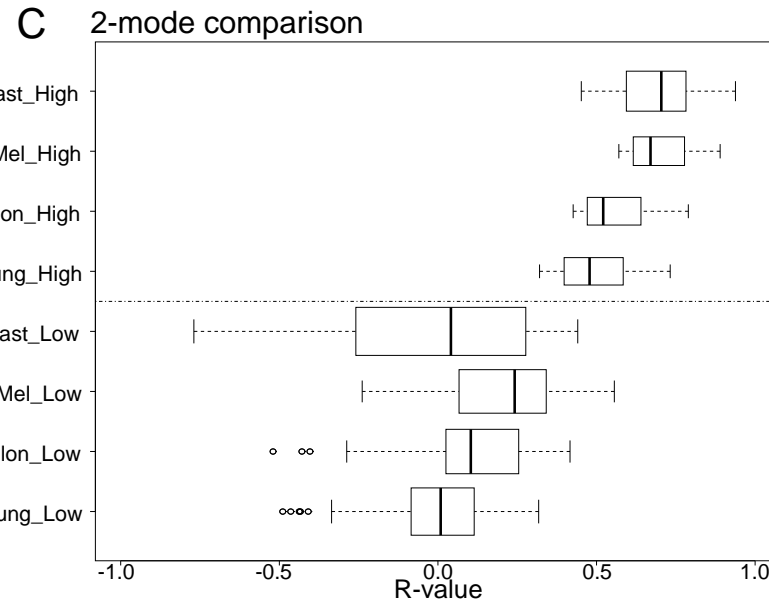
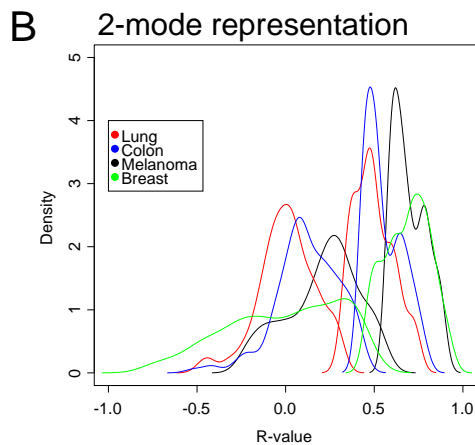
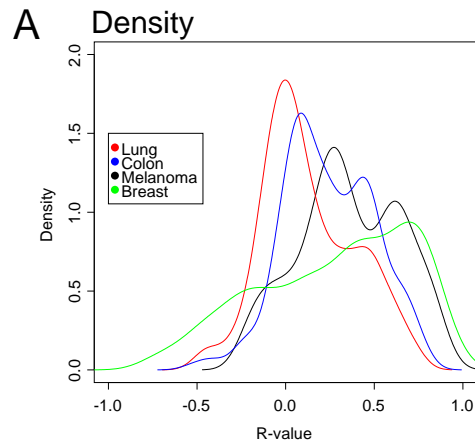
Sein



Poumon



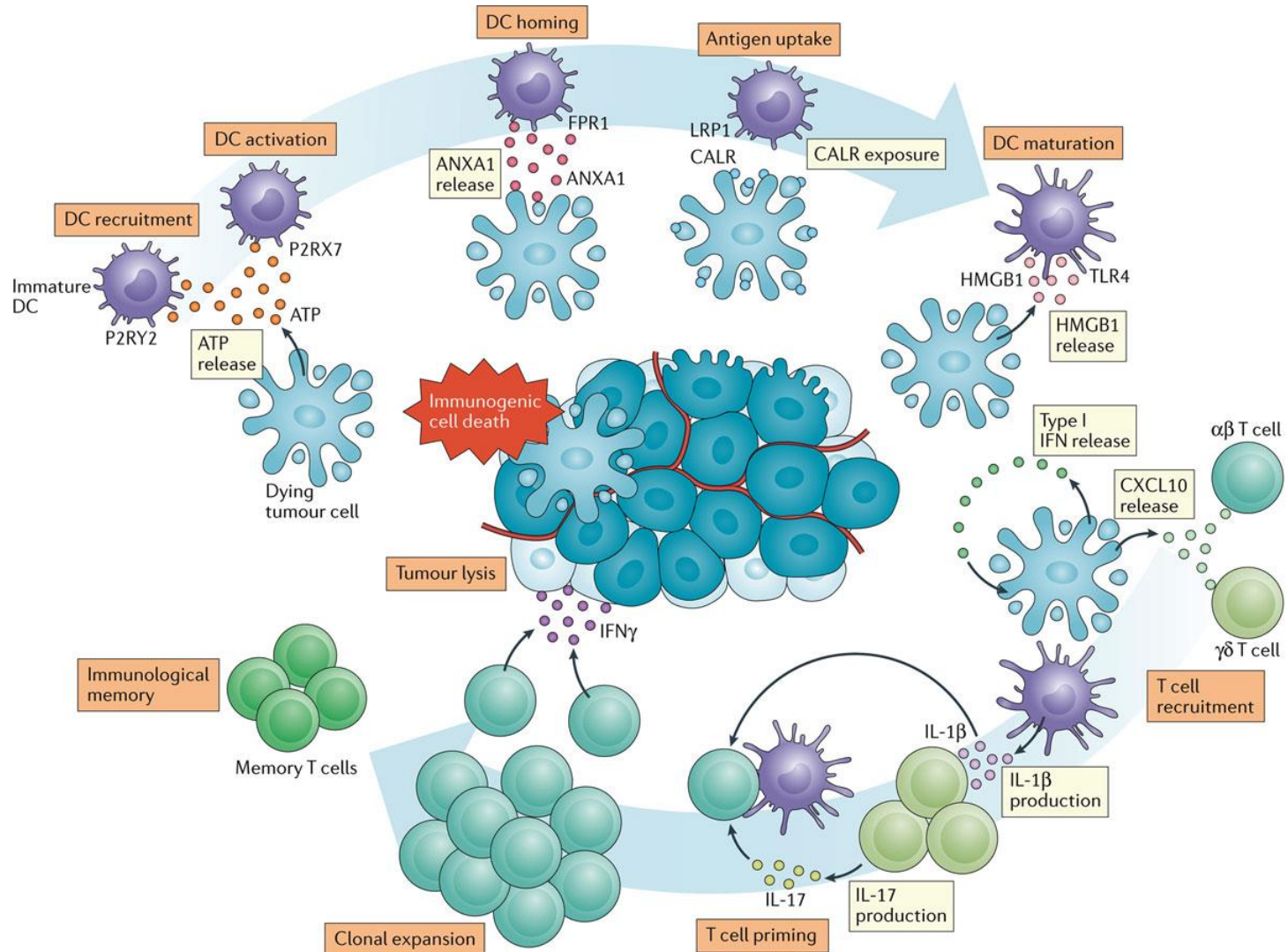
Représentation générale de la corrélation entre les infiltrats immunitaires, pour différents types de tumeurs.



Résultat : pour tous les types, deux groupes de corrélation: a. autour de zéro, b. positif. La position des deux groupes dépend du type de cancer. La reproductibilité aussi.

Nécroptose, infiltrats immunitaires dans les différents types de cancer du sein.

Motivation:
Quel est le rôle de la nécroptose (nécrose programmée) dans le processus de mort cellulaire immunogénique.



Nécroptose, infiltrats immunitaires dans les différents types de cancer du sein.

Jeux de données:

- Sein : les deux plus grand, TCGA (500), METABRIC (2000)
- Colon (300)
- Poumon (450)
- Mélanome (80)
- Ovaire (100)

Métagènes immunitaires : package publié « MCPcounter », mis au point sur des données réelles, fondé sur la moyenne d'expression de gènes représentatifs.

Gènes de la nécroptose :

MLKL

RIPK1

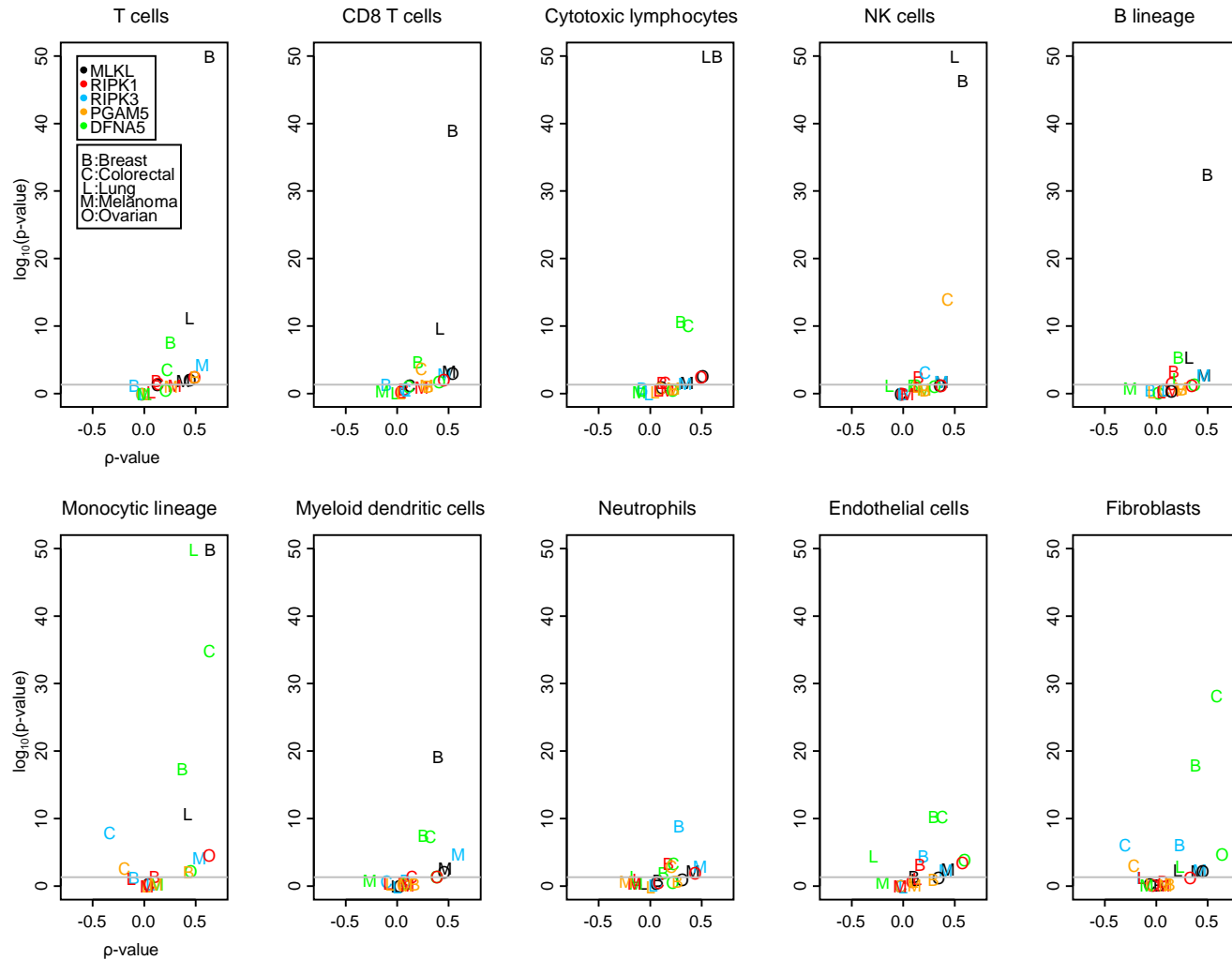
RIPK3

PGAM5

DFNA5

Nécroptose, infiltrats immunitaires dans les différents types de cancer du sein.

« Volcano plot » : corrélation entre gènes et métagènes, coefficient (rho) vs p-value



Corrélation entre la nécroptose (MLKL) et système immunitaire dans le cancer du sein (TCGA)

Nécroptose, infiltrats immunitaires dans les différents types de cancer du sein.

TCGA

Résultat :

MLKL corrélé avec

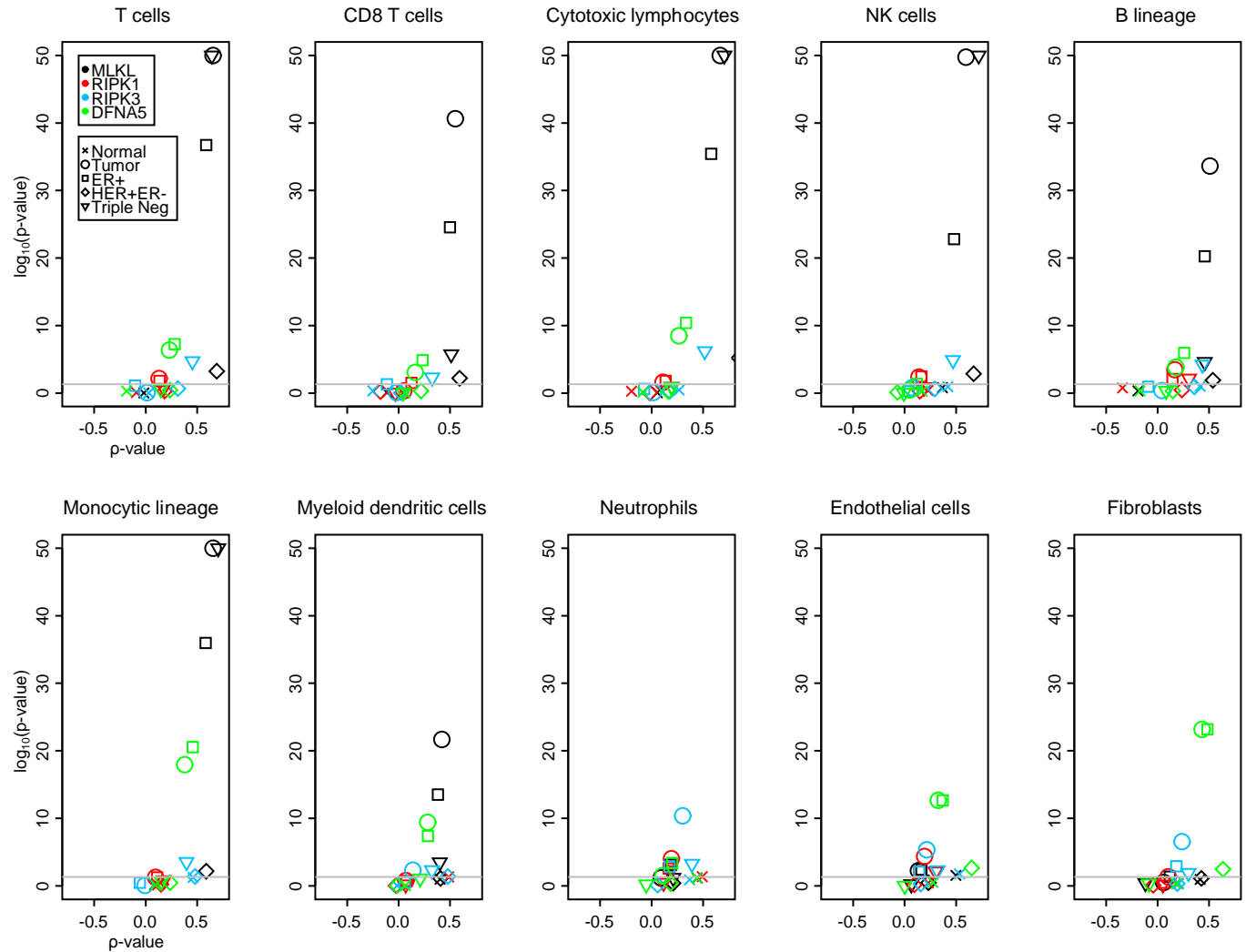
- T cells
- CD8 T cells
- Cytotoxic lymphocytes

- NK

- B
- Monocytic

Dans

- Tumeurs
- ER+
- Triple neg (T, cytotoxic, monocytic)



Nécroptose, infiltrats immunitaires dans les différents types de cancer du sein.

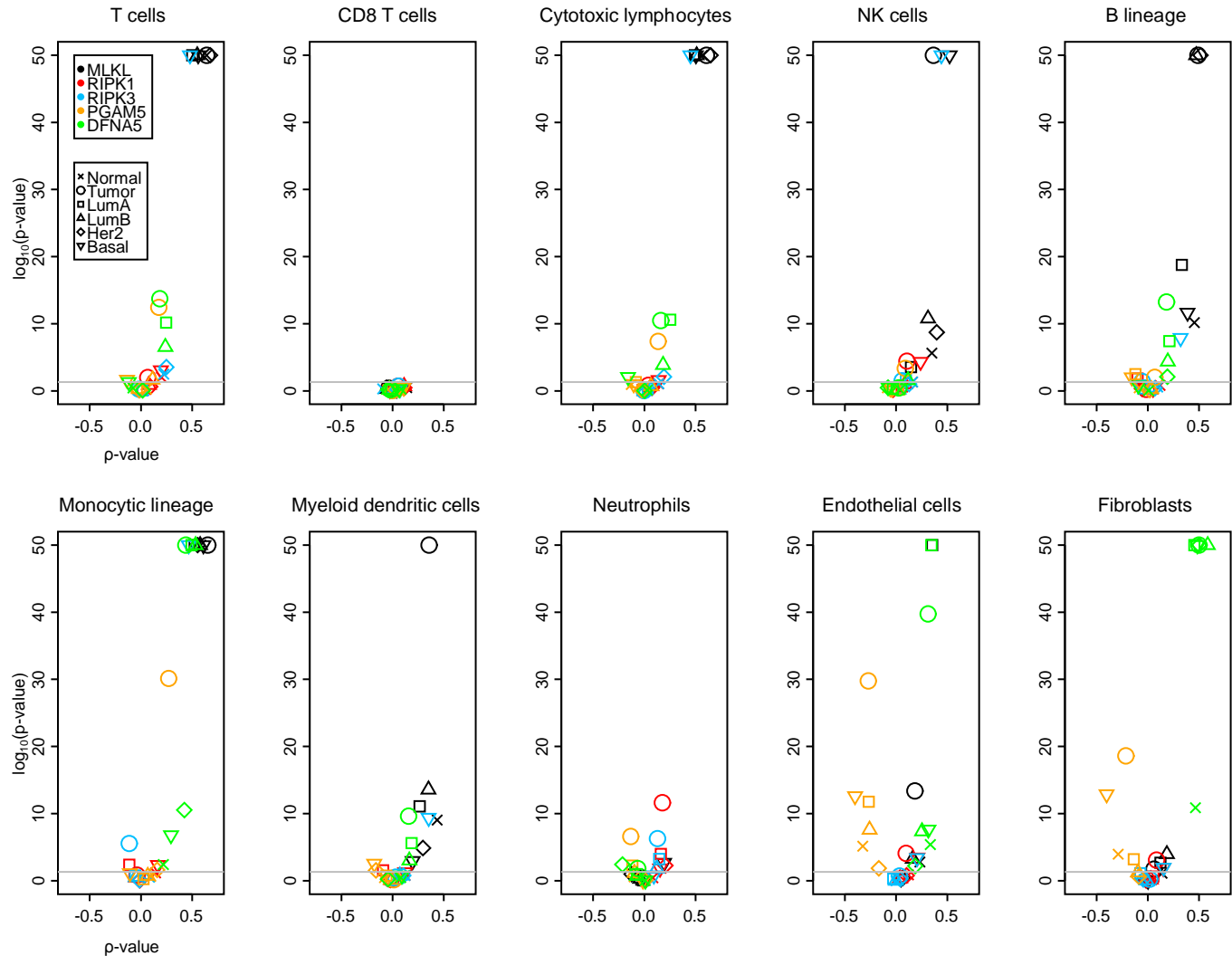
METABRIC

Résultat :
MLKL corrélé avec

- T cells
- Cytotoxic lymphocytes
- NK
- B

Dans

- Tumeurs
- LumA
- Basal (T, cytotoxic, NK, B, monocytic)



Conclusion

- Mesure indirecte de l'infiltrat immunitaire avec des données de transcriptome.
- Les différentes corrélations sont reproductibles → identification de mécanismes biologique ?
- Différence de corrélation entre les différents types de cancers.
- Étude possible autour d'un phénotypes précis, comme la nécrose.

Perspective

- RNA-seq.
- Image (anapathologie) + transcriptome .
- Modélisation mathématique.

Remerciement

Guido Kroemer

David Enot

Membres de l'U1138

- B. Mlecnik
- G. Bindea
- J. Galon

U900 (bioinformatique) à l'Institut Curie

B. Sadacca à l'Institut Curie (groupe de F. Reyat)

Labex Oncoimmunologie.