

[COVID Information Commons \(CIC\) Research Lightning Talk](#)

Transcript of a Presentation by Cassian Yee (MD Anderson Cancer Center), October 26, 2021



Title: T Cell Immunity Of COVID19: Developing Biomarker And Therapeutic Strategies

NIH Project #: [3R01CA237672-02S1](#)

[YouTube Recording with Slides](#)

[October 2021 CIC Webinar Information](#)

Transcript Editor: Julie Meunier

Transcript:

Lauren Close:

Slide 1

J'aimerais maintenant souhaiter la bienvenue à Cassian, qui nous rejoint aujourd'hui de l'Université du Texas au Centre de cancérologie Anderson. Cassian, si vous voulez bien commencer, nous serions ravis d'entendre votre présentation.

Cassian Yee:

Slide 2

Au fait, vous pouvez tous voir l'écran ? Et vous m'entendez ? D'accord, désolé, j'ai dû mettre mes écouteurs. Il y a un peu de bruit ambiant et je sais que les titres changent un peu, mais voici une diapositive qui décrit le sujet de cette discussion particulière, qui porte sur un autre aspect de l'immunité COVID. La plupart des gens se sont focalisés sur les anticorps neutralisants et la réponse sérologique, et je pense que c'est un témoignage de la flexibilité et de l'agilité des NIH, c'est probablement un oxymore, mais je pense que dans ce cas particulier, il s'est avéré que nous avons pu réorienter notre laboratoire et le financement supplémentaire fourni par les NIH pour passer de notre travail sur le cancer du pancréas au travail sur le COVID-19.

Slide 3

Cette diapositive est très chargée, mais je pense que je ne veux souligner que deux choses. La première est que la famille des coronavirus comprend des virus non pathogènes. Certains d'entre vous les

reconnaissent. Cette nomenclature et les coronavirus pathogènes. Le SRAS, le MERS et le SARS-CoV-2 dont nous discutons ici.

Slide 4

Il s'agit d'une brève présentation de la biologie afin que vous puissiez comprendre de quelles structures nous parlons lorsque nous évoquons les réponses des lymphocytes T. La glycoprotéine spiculaire est ce qui se lie au récepteur Ace et délivre le virus. [Désolé, je ne sais pas si je peux revenir en arrière d'une diapositive. Je me suis un peu trompé. Voilà]. Mais le coronavirus a évidemment une enveloppe nucléocapside à ARN et je vais donc parler des protéines structurelles et non structurelles. La plupart des réponses anticorps sont dirigées contre les protéines structurelles comme la glycoprotéine spiculaire et la protéine S ou la réponse S contre laquelle la plupart des tests sérologiques IgM, IgA, IgG sont dirigés.

Slide 5

Il s'agit encore une fois de... Je vais me concentrer sur trois éléments. Le premier est la charge antigénique en violet. On espère qu'il s'agit d'une réponse réussie, c'est-à-dire que l'augmentation de la charge antigénique induit une réponse des anticorps et des cellules T, puis la charge antigénique diminue. Évidemment, dans le cas d'un COVID long ou d'un COVID qui ne répond pas de cette manière [oups, désolé, j'ai recommencé], vous verrez que l'antigène persistera, ce qui est corrélé à la transmissibilité. Ce sur quoi je me concentre, c'est la réponse des cellules T, en bleu clair ici. C'est un peu trompeur parce que cela ne représente pas ce que vous voyez ici, c'est-à-dire une réponse protectrice. Il s'agit simplement d'une mesure structurelle de l'anticorps et ce sur quoi je vais me concentrer ici, c'est de disséquer la réponse des cellules T de plus près.

Slide 6

Et la question est de savoir pourquoi nous sommes intéressés par la recherche d'épitopes de cellules T pour le SARS-CoV-2 ? Ok, et la raison est que nous voulons comprendre l'histoire naturelle de l'immunité des cellules T. Il est beaucoup plus difficile de mesurer l'immunité des cellules T que de mesurer la réponse sérologique. Il est beaucoup plus difficile de mesurer l'immunité des cellules T que de mesurer la réponse sérologique. De plus, si vous mesurez correctement ces réponses, nous pourrions peut-être prédire si vous êtes protégé ou non, à quel point la situation peut empirer pour un individu donné et quel est l'effet d'une certaine intervention.

Slide 7

Il s'agit donc d'un article qui ne représente en fait qu'une année de travail. Un an et demi de travail. Je dois vraiment féliciter le Dr Ke Pan et le Dr Yulun Chiu du laboratoire qui ont vraiment mené cette recherche dans une période très difficile, et cela se joue à peu de choses.

Slide 8

Désolé, combien de temps me reste-t-il ? Parce que j'ai oublié. Ai-je cinq minutes ou dix minutes ?

Lauren:

Vous avez 10 minutes et vous en êtes à environ trois minutes, vous avez donc largement le temps de vous étendre.

Cassian:

Slide 9

Oui, j'essaierai de ne pas aller trop vite, mais je tiens à souligner un aspect très important, à savoir que lorsque vous examinez la réponse des cellules T, vous examinez un peu de protéine qui est amenée à la surface de la cellule, c'est-à-dire une séquence de neuf acides aminés, un peptide de neuf longueurs, ou de 14 [inaudible] s'il s'agit d'une réponse de CD4 de classe 2. Je vais me concentrer sur la réponse des cellules T limitées à la classe I. La cellule T CD8, par l'intermédiaire de son récepteur de cellule T, reconnaît une séquence peptidique de neuf acides aminés apportée à la surface, qui est constituée de fragments d'une protéine. Cette protéine peut provenir de n'importe où.

Elle peut provenir de la surface, des protéines non structurales, des facteurs de transcription, etc. La réponse des cellules T est donc beaucoup plus large qu'une réponse anticorps potentielle et le problème est qu'on ne peut pas prédire ce qu'elle est simplement en faisant une analyse in silico, et je pense que c'est là tout l'intérêt de cette discussion dans l'article : si vous voulez trouver ce peptide, vous devez aller là où se trouve l'argent, vous éluez ce peptide à partir du CMH du SRAS-CoV, Vous éluez ce peptide à partir du CMH des cellules infectées par le SRAS-CoV-2 ou des cellules qui l'expriment, puis vous le passez au spectromètre de masse en tandem, et il y a un tas d'algorithmes que nous utilisons ensuite pour classer les peptides par ordre de priorité. Ceci est censé être une cellule T avec un récepteur de cellule T et ce que je montre ici, c'est que non seulement nous extrayons le peptide mais nous validons son immunogénicité, ce qui signifie que ce peptide n'est pas seulement traité et présenté à la surface d'une cellule infectée par le virus, mais que vous pouvez induire une réponse de cellule T et cette réponse de cellule T provient de cellules mononucléaires humaines normales du sang périphérique. Cette réponse des cellules T est suffisante pour reconnaître une cellule infectée. Elle a donc suffisamment d'affinité pour reconnaître cette cible et ce peptide est présent avec une densité suffisante pour que cette interaction conduise à la destruction, et je parlerai de la TCRT dans une minute.

Slide 10

Mais je pense qu'il s'agit de la structure dont nous parlons. Il s'agit du génome SARS-CoV-2 ORF1a et 1b. Il y a une protéine spiculaire dont tout le monde sait qu'elle est collée à la surface. Il y a ensuite toute une série de gènes accessoires associés à la structure, la protéine MGP de la capsid nucléaire, dont nous allons parler dans une minute. N'oublions pas qu'une énorme partie du gène est consacrée à la survie et à la fonction du virus SARS-CoV-2.

Il s'avère que des personnes ont étudié les réponses des cellules T, en se contentant de cette partie de la protéine spiculaire, parce qu'elle est accessible, et qu'il n'y a pas de problème. Ils sont tombés sur un certain nombre de peptides, vous pouvez donc voir ces listes de peptides, dont certains sont plus longs que d'autres, et un certain nombre de personnes ont publié sur ce sujet et ont fait tout un plat du fait qu'il existe des réponses immunitaires dominantes, qu'il s'agit de réponses majeures des cellules T dominantes. Non seulement chez les personnes infectées par le SRAS-CoV-2, mais apparemment aussi chez les donneurs sains, et donc si vous regardez visuellement, ces grandes barres représentent ce que les autres scientifiques ont appelé les réponses à dominante immunitaire. Et il s'avère, oh mon Dieu, qu'on les trouve également chez des personnes en bonne santé qui n'ont jamais été exposées au SRAS-CoV-2, comme ils le savent, alors ils disent oh wow, il y a une certaine réactivité croisée et ainsi de suite, ce qui en fait une belle histoire. Je ne dis pas que c'est faux, mais je dis que c'est imparfait. Et la

raison pour laquelle c'est imparfait est que les gens prennent tout un tas d'épitopes peptidiques différents, et vous pouvez voir ici toute la liste provenant de différentes parties de la protéine, et ils ont étudié les réponses chez les patients et ils voient des réponses variables, ce qui est très bien, et en fait si vous regardez dans les archives métaboliques, il y a 2 000 épitopes de classe 1 et 1 400 épitopes de classe 2, donc tout cela est prédit. Pour que vous compreniez encore mieux pourquoi je suis un peu passionné par ce sujet, vous pouvez prendre n'importe quel peptide qui se lie très bien au CMH, qui est prédit pour se lier. Il suffit donc de cartographier la séquence et de l'introduire dans le PBMC pour obtenir une réponse des cellules T. Que ce peptide soit effectivement présenté avec cette réponse des cellules T est pertinent ou non, pour la plupart, et vous savez que c'est une déclaration controversée, probablement, toutes ces études ignorent ce fait. Elles veulent simplement connaître cette réactivité, dont une partie peut être réelle, l'autre non.

Slide 11

Mais nous avons décidé de nous lancer. Voyons voir pour ces épitopes immunodominants, *les gens sont prévisibles, ils sont tous prévisibles*. Génèrent-ils réellement une cellule T qui reconnaît la cible ? Et malheureusement, nous avons fait tout ce travail, Ke a effectivement généré des cellules T, nous les avons extraites, nous les avons étendues, nous les avons triées, vous pouvez voir que c'est un beau groupe, ce qui signifie qu'elles sont toutes spécifiques du tétramère pour ce peptide. Ils ne reconnaissent pas les cibles exprimant le SARS-CoV-2, donc zéro, complètement plat, vous pouvez le voir ici, donc pas pertinent, en ce qui nous concerne, d'un point de vue immunogénique. Ces peptides sont donc prédits, mais ils ne suscitent pas de réponse de la part d'une cellule T reconnaissant le SARS-CoV2.

Slide 12

Qu'avons-nous fait à la place ? Nous avons cherché l'argent. Nous avons cherché le peptide. Nous avons fait l'analyse par spectrométrie de masse. Nous avons examiné tous ces gènes. Et pour que cela soit aussi efficace que possible, nous avons conçu des cellules présentatrices d'antigènes pour exprimer ces différentes parties du SARS-CoV-2 et avec différents allèles HLA afin d'obtenir une couverture aussi large que possible. Vous pouvez voir que nous avons mis en évidence ici la glycoprotéine membranaire de la protéine non structurale.

Slide 13

Nous avons effectué l'analyse. Nous l'avons comparée à la base de données pour nous assurer que ces gènes sont effectivement exprimés, et c'est ainsi que nous la remplaçons - nous avons l'habitude d'utiliser des tumeurs, mais maintenant nous utilisons la cellule modifiée SARS-CoV-2 et nous suivons le protocole que je vous ai expliqué plus tôt. Nous avons généré des cellules T contre ces épitopes peptidiques et nous avons ensuite testé que ces cellules T tuent effectivement la cellule modifiée.

Slide 14

Voici un exemple de spectrométrie de masse et de déconvolution. Vous obtenez une séquence de peptides.

Slide 15

Et voici ce que nous avons obtenu. Nous en avons publié cinq. Il y en a en fait 18 et vous pouvez voir que quatre d'entre eux se trouvent dans une protéine non structurale. L'un d'entre eux se trouve dans une

glycoprotéine membranaire, et la ligne du haut est la séquence. Nous avons pris la séquence du SARS-CoV-2. Nous l'avons comparée à toutes les séquences des autres familles de coronavirus. Nous avons constaté une certaine identité, mais aussi des erreurs d'identification. Il est possible que si vous avez été précédemment exposé à l'un de ces - pardon, à l'un de ces autres virus, vous puissiez encore susciter une réponse de la cellule T spécifique du SARS-CoV-2.

Slide 16

C'est intéressant. C'est intéressant, mais ce qui l'est encore plus, c'est qu'il s'avère que ces cibles - et j'ai montré à nouveau les cinq mêmes cibles ici dans la région des protéines non structurales et aussi dans la région des glycoprotéines de la mémoire - sont très conservées parmi toutes les variantes - la variante alpha, et je ne montre pas la variante delta, mais la variante delta aussi. Ce sont les variations, mais vous pouvez voir qu'il n'y a pas de variation. Vous savez qu'elle est très conservée en partie parce que les protéines non structurales peuvent être responsables de l'activité de l'hélicase, etc.

Slide 17

Nous avons donc procédé de la même manière que pour l'immunodominant prédit. Nous n'avons trouvé aucune réponse.

Slide 18

Mais ici, nous l'avons fait et nous avons montré, en résumé, que ces cellules T - elles répondent aux cibles de flux de peptides, mais elles répondent également contre la glycoprotéine membranaire exprimée de manière endogène. Beaucoup de morts ici. Beaucoup de morts ici.

Slide 19

Et je peux vous montrer la même chose pour les quatre - cinq d'entre eux ensemble. La belle tuerie. Nous croyons donc au multigraphe et, pour le compléter, j'ai dépassé de 30 secondes le temps qui m'était imparti, désolé. Le dernier point que je vais aborder ici est que nous allons extraire le récepteur des cellules T et prouver que ce récepteur peut transférer la spécificité. Nous clonons donc notre récepteur de cellules T dans les PBMC et nous montrons que les cibles du SARS-Cov2 sont également reconnues.

Slide 20

Il est publié juste pour prouver de fond en comble que la prédiction ne conduit pas aux épitopes du SARS-Cov2, mais en fait, ce que vous devez faire est d'éluer le peptide. Certains d'entre eux sont bien sûr prévus parmi les quatre milliers, mais il faut s'attaquer à ceux spécifiques qui sont élus et nous en avons en fait tout un tas maintenant, non seulement contre les pointes et les glycoprotéines, mais aussi contre les cibles NSP.

Slide 21-22

Et je pense que la question à laquelle nous voulons répondre est la suivante : ce test avec un groupe plus sélectionné d'épitopes peptidiques, ces épitopes de cellules T, sera-t-il pertinent pour étudier plus en détail les réponses des cellules T ? Il ne s'agit pas d'ajouter ces trois ou quatre milliers de peptides et d'espérer obtenir une certaine pertinence. Je pense que ce sont les questions que nous allons nous poser au fur et à mesure que nous avançons.

Slide 23

Et puis, la dernière chose que je voudrais dire, c'est que tout le monde ne connaît pas Maurice Hilleman. Tout le monde ne connaît pas Maurice Hilleman. C'est un héros. Il devrait être considéré comme un super-héros. Il a littéralement sauvé des millions de vies grâce aux stratégies vaccinales qu'il a mises en œuvre pour de nombreuses maladies infantiles - rubéole, etc. Oreillons, rougeole, rubéole. Et aussi Zhang Yongzhen qui, en 48 heures, a littéralement remis le génome du SRAS-CoV-2 dans le domaine public, ce qui a permis à Pfizer et à tous les autres de gagner des milliards de dollars en fabriquant ces vaccins et en sauvant des vies, et c'est grâce à son travail que nous sommes arrivés là où nous en sommes aussi rapidement que possible.

Slide 24

Je tiens à remercier tout le monde ici et à prouver qu'il s'agit d'un supplément issu d'une subvention pour le cancer du pancréas et qui a conduit à ce type de collaboration. Je remercie donc la Commission de nous avoir permis d'exposer une partie de ce travail. Je vous remercie de tout cœur.