



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

Titre du projet : Développement d'un modèle du diabète de type 1 dérivé de cellules souches humaines

Superviseur(s) du projet : Megan Levings

Mots clés associés au projet (jusqu'à 10) : cellules souches, îlots, présentation de l'antigène, cellules T, auto-immunité, humain

Objectifs à court et à long terme du projet :

Objectifs à court terme :

- Générer des cellules productrices d'insuline dérivées de cellules souches, des cellules présentatrices d'antigènes et des lymphocytes T à partir d'une nouvelle lignée de cellules souches pluripotentes induites HLA-A2+DR4+DQ8+.
- L'ingénierie des lymphocytes T et des récepteurs antigéniques chimériques sera utilisée pour générer des lymphocytes T spécifiques de l'antigène des îlots afin que ce système à trois cellules puisse être utilisé pour modéliser l'auto-immunité.
- Des lymphocytes T régulateurs pourraient être ajoutés au système pour l'étude d'une thérapie cellulaire toléro-gène.

Objectifs à long terme :

Utiliser ce système cellulaire autologue dérivé de cellules souches multiples pour créer un nouveau modèle de souris humanisé qui permettra de tester de nouvelles thérapies pro-toléro-gènes.

Description du projet, y compris son lien avec les cellules souches et la médecine régénératrice :

Plusieurs thérapies toléro-gènes prometteuses sont en cours de développement pour le diabète de type 1 (DT1), mais un facteur limitant majeur est le manque de modèles in vitro et in vivo pour étudier et manipuler l'auto-immunité. Ce projet vise à surmonter cette limite en exploitant les méthodes existantes pour produire des cellules productrices d'insuline, des cellules présentatrices d'antigènes et des lymphocytes T à partir d'une lignée de cellules souches présentant un haplotype pertinent pour le DT1 (A2+DR4+DQ8+). Plus précisément, au cours de la première année, le candidat apprendra à générer ces multiples types de cellules et à valider leur phénotype et leur fonction. L'ingénierie génétique des lymphocytes T CD8+ dérivés de cellules souches sera utilisée pour introduire des récepteurs de lymphocytes T spécifiques d'auto-antigènes et la capacité des îlots à stimuler ces cellules directement ou indirectement via



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

les cellules présentatrices d'antigènes sera testée. Une fois établi, ce modèle sera utilisé pour étudier les effets des stratégies tolérogènes, y compris dans le cadre d'une thérapie à base de lymphocytes T régulateurs et d'une thérapie à base nanoparticules lipidiques, à la fois in vitro et in vivo.

Compétences de laboratoire et fondamentales : Ce projet fera appel à l'expertise de l'ensemble du Centre et fournira des possibilités de travailler avec les chercheurs Levings, Verchere et Lynn pour l'apprentissage des protocoles de différenciation des cellules souches. Les travaux sur la différenciation des lymphocytes T incluront des collaborations avec le prof. Zandstra. Le candidat acquerra une expertise variée en matière de systèmes expérimentaux, notamment en différenciation des cellules souches, ingénierie génétique, immunothérapie et tolérance, ainsi que sur les modèles animaux. Ultérieurement, le projet utilisera le modèle animal fondamental pour transférer divers types de cellules in vivo afin de créer un nouveau modèle de DT1 à base de cellules humaines. Outre les programmes de formation du Centre et du Children's Hospital Research Institute de la Colombie-Britannique, le candidat sera affilié à la School of Biomedical Engineering, qui offre de solides possibilités de développement de carrière.

Application des connaissances : Le ou la stagiaire aura l'occasion de présenter son travail localement à de multiples occasions et d'assister à au moins une conférence internationale par an. Dans le cadre des activités du Centre, le ou la stagiaire échangera avec des partenaires ayant une expérience vécue de ce type de recherche. Ses travaux seront publiés dans des revues reconnues.



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

Titre du projet : Phénotypage par imagerie d'îlots de Langerhans dérivés de cellules souches

Superviseur(s) du projet : Hongshen Ma

Mots clés associés au projet (jusqu'à 10) : îlots dérivés de cellules souches, insuline, glucagon, somatostatine, sécrétion, hétérogénéité

Objectifs à court et à long terme du projet :

Ce projet vise à élaborer de nouvelles méthodes pour mesurer à l'aide de la microscopie la fonction et la robustesse des îlots dérivés de cellules souches. Dans un premier temps, nous mettrons au point un test à base de microscopie pour mesurer la sécrétion d'insuline, de glucagon et de somatostatine stimulée par le glucose (GISI) à partir d'îlots individuels. En utilisant cette méthode pour mesurer la fonction des îlots, nous analyserons simultanément la morphologie des îlots en utilisant des colorants non spécifiques pour mettre en évidence le noyau cellulaire, le cytoplasme, le cytosquelette et les mitochondries. Enfin, nous utiliserons les plus récents outils d'intelligence artificielle pour relier la morphologie des îlots et la sécrétion d'hormones afin de permettre un phénotypage rapide de la fonction des îlots à partir d'images. Nous utiliserons une approche similaire pour étudier la robustesse des îlots pour la transplantation et la prise de greffe.

Description du projet, y compris son lien avec les cellules souches et la médecine régénératrice :

L'efficacité thérapeutique potentielle des îlots dérivés de cellules souches (îlots-SC) est actuellement évaluée en vrac en mesurant la GSIS à l'aide de la trousse ELISA. Toutefois, cette approche ne tient pas compte de l'hétérogénéité fonctionnelle des îlots-SC, qui peut résulter de différences de maturation, de composition et de robustesse. Bien que les techniques unicellulaires telles que l'électrophysiologie, l'imagerie calcique, la cytométrie de flux et le séquençage de cellule unique puissent donner un aperçu de la variabilité au niveau de la cellule unique, ces méthodes demandent beaucoup de travail, offrent un faible débit et, surtout, sont incapables de quantifier la sécrétion d'insuline. L'absence de méthodes permettant de mesurer la fonction des îlots-SC au niveau de l'îlot unique est un obstacle majeur à



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

l'amélioration de l'efficacité thérapeutique des îlots-CS, car les mesures en vrac masquent les différences critiques entre les sous-populations et ne parviennent pas à détecter les cellules et les îlots dysfonctionnels ou problématiques.

Les progrès récents de l'intelligence artificielle (IA) ont conduit à la mise au point d'algorithmes puissants capables d'extraire des informations détaillées à partir d'images. Ces algorithmes peuvent non seulement reproduire certains aspects de la cognition humaine, mais aussi la surpasser en analysant des modèles subtils et des relations non linéaires qui peuvent dépasser de loin le seuil de la perception humaine. Nous utiliserons cette approche pour découvrir la relation qui existe entre la fonction de sécrétion hormonale des îlots et leur morphologie.

La capacité d'évaluer l'efficacité thérapeutique des îlots-CS au niveau de l'îlot unique sera cruciale pour la mise au point de produits de thérapie cellulaire utilisables, car les îlots-CS actuels ne peuvent pas égaler la fonction GSIS des îlots du donneur et sont insuffisants pour un contrôle glycémique physiologique. Chaque cellule étant unique, la capacité d'évaluer la fonction des îlots à l'aide d'une technique d'imagerie non destructive sera également essentielle pour garantir la qualité et la constance pendant la fabrication et avant la transplantation chez les patients. Le profilage des îlots-SC alimenté par l'IA fournira une analyse rapide et à haut débit de la fonction, de la santé, de la robustesse et de la viabilité des îlots, ce qui permettra de détecter rapidement les défauts ou les cellules peu performantes avant qu'elles ne soient utilisées dans le cadre d'une thérapie. Cette approche permettra de rationaliser le processus de fabrication, de réduire la variabilité et d'améliorer la sûreté et l'efficacité globales des thérapies à base d'îlots de Langerhans pour les patients atteints de DT1.

Compétences de laboratoire et fondamentales

- Microscopie à haut débit
- Cellule de cytométrie en flux
- Fonction des îlots de Langerhans
- Notions fondamentales de l'édition génomique

Application des connaissances :

- Publications
- Participation à des conférences



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

Titre du projet : Tolérer les nanoparticules lipidiques (NPL) pour le traitement du DT1

Superviseur(s) du projet : C. Bruce Verchere, Ph. D.

Mots clés associés au projet (jusqu'à 10) : diabète de type 1, nanomédicaments, nanoparticules lipidiques, ARNm, thérapie génique, macrophages, cellules dendritiques, tolérance, auto-immunité, médecine régénératrice.

Objectifs à court et à long terme du projet :

Objectifs à court terme :

- Déterminer si tolérer les NPL dans le cadre d'une thérapie à ARNm permettrait d'inverser la progression du DT1 chez les souris diabétiques non obèses (DNO).
- Déterminer le mécanisme par lequel tolérer les NPL dans le cadre d'une thérapie à ARNm pourrait prévenir le DT1 chez les souris DNO.

Objectifs à long terme :

- Rapprocher une thérapie génique à base de nanoparticules lipidiques tolérantes du stade d'essai clinique pour le DT1.

Description du projet, y compris son lien avec les cellules souches et la médecine régénératrice :

Le diabète de type 1 (DT1) nécessite la présentation d'antigènes par des cellules immunitaires innées (cellules dendritiques et macrophages) dans le pancréas, dans le contexte d'un environnement pro-inflammatoire. De plus en plus d'éléments indiquent que les macrophages des îlots de Langerhans seraient de possibles cibles thérapeutiques : la suppression des macrophages ou l'orientation des macrophages des îlots de Langerhans vers un phénotype anti-inflammatoire et réparateur prévient le diabète auto-immun chez les souris DNO. Le laboratoire du promoteur, en collaboration avec son partenaire industriel Integrated Nanotherapeutics, a mis au point un nanomédicament à base de nanoparticules lipidiques (NPL) chargées de médicaments tolérants et d'ARNm exprimant l'autoantigène de la cellule bêta du DT1. De manière remarquable, cette thérapie génique tolérante à base de NPL prévient le diabète dans le modèle préclinique du DT1 chez les souris DNO. Nous visons maintenant à faire progresser cette approche thérapeutique prometteuse



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

vers le stade clinique. Le ou la stagiaire fera partie de l'équipe chargée d'élaborer de nouveaux nanomédicaments et travaillera sur l'immunité innée et l'auto-immunité dans le contexte du DT1. Plus précisément, le projet visera à comprendre le mécanisme par lequel la thérapie à ARNm à base de NPL prévient le DT1 et à déterminer si elle peut inverser le cours de la maladie, avec et sans immunothérapies complémentaires et thérapies régénératrices des cellules bêta. En fonction des intérêts et de l'expertise du ou de la stagiaire, la recherche pourra s'étendre à des études sur des cellules humaines et à des modèles de remplacement des cellules bêta dans le DT1, y compris la transplantation d'îlots de Langerhans et de cellules bêta dérivées de cellules souches. Dans le contexte du DT1, le projet couvrira l'immunologie (immunité innée et auto-immunité), la régénération des cellules bêta, l'ingénierie et des nanomédicaments et leur utilisation, et les modèles précliniques de diabète. Le ou la stagiaire bénéficiera de l'importante infrastructure du BC Children's Hospital Research Institute, du mentorat collégial et solidaire de l'équipe, d'un environnement de formation à la recherche sur le diabète riche et diversifié, et de la possibilité d'interagir avec un partenaire de l'industrie.



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

Titre du projet : Les prohormones des îlots de Langerhans comme biomarqueurs pour la prédiction de la maladie et de la réponse à l'immunothérapie et à la thérapie cellulaire

Superviseur(s) du projet : C. Bruce Verchere, Ph. D.

Mots clés associés au projet (jusqu'à 10) : diabète de type 1, fonction des cellules bêta, prohormones, proinsuline, proIAPP, greffes de cellules souches, tranches de pancréas, protéomique, immunohistochimie multiplex, essais cliniques

Objectifs à court et à long terme du projet :

Objectifs à court terme :

- Identifier et valider les biomarqueurs de la fonction des cellules bêta dans le DT1 et après la transplantation d'îlots de Langerhans et de cellules bêta dérivées de cellules souches, et affiner et appliquer des tests pour les mesurer dans des modèles précliniques et des essais cliniques.

Objectifs à long terme :

- Améliorer la prédiction du DT1 et de l'échec des greffes d'îlots/de cellules souches, et mieux prédire et suivre la réponse thérapeutique dans des essais cliniques du DT1 grâce à la mesure des biomarqueurs de prohormones.
- Mieux comprendre la pathogenèse du dysfonctionnement résiduel des cellules bêta dans le DT1 et les causes de l'échec des greffes d'îlots/de cellules souches afin d'améliorer les résultats cliniques pour les personnes atteintes de DT1.

Description du projet, y compris son lien avec les cellules souches et la médecine régénératrice :

Les peptides des cellules bêta, l'insuline et le polypeptide amyloïde des îlots de Langerhans (IAPP), sont d'abord produits sous forme de propeptides précurseurs, de proinsuline et de proIAPP. La transformation correcte de la proinsuline et du proIAPP en leurs formes matures et actives est une propriété des cellules bêta saines et différenciées, et elle est altérée chez les cellules bêta stressées et immatures (ou dédifférenciées). Le laboratoire du promoteur a démontré que les formes de proIAPP incomplètement transformées (comme pour la proinsuline) sont



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

disproportionnellement élevées chez les personnes atteintes de DT1 (PMID:28368485) ainsi que chez les receveurs de greffes d'îlots avant l'échec de la greffe (PMID:35506189). Un paradigme est en train de se dessiner selon lequel les prohormones des îlots seraient des biomarqueurs du dysfonctionnement des cellules bêta dans le DT1 (PMID:33947721) et pourraient être utiles pour prédire la progression du DT1, la réponse à l'immunothérapie du DT1 et l'échec des greffes de cellules bêta. Le ou la stagiaire jouera un rôle de premier plan au sein d'une équipe utilisant des approches protéomiques, notamment la spectrométrie de masse et la biochimie des protéines, pour découvrir, valider et évaluer les biomarqueurs de prohormones dans plusieurs paradigmes cliniques, notamment : (i) des essais cliniques sur le DT1 (p. ex., immunothérapie, vérapamil), afin d'évaluer la réponse aux traitements et d'améliorer la stratification des patients dans les futurs essais; (ii) les personnes à risque de développer un DT1, afin d'évaluer leur utilisation pour la prédiction du DT1; (iii) les receveurs de greffes d'îlots et de cellules bêta dérivées de cellules souches (cellules bêta-CS) dans le DT1, afin de mieux évaluer la maturité et la fonction du greffon et de prédire l'échec de la greffe. L'évaluation du mécanisme de traitement des prohormones dans le pancréas d'une personne atteinte du DT1 (échantillons de nPOD) et à différents stades de la différenciation des cellules bêta dérivées de CS humaines sera effectuée in vitro et dans des modèles précliniques de greffes de cellules bêta, en utilisant ces approches protéomiques ainsi que l'immunohistochimie multiplex (Akoya) pour mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent le dysfonctionnement résiduel des cellules bêta chez les personnes atteintes du DT1. La sécrétion de proIAPP et de proinsuline sera évaluée à l'aide de tranches de pancréas humain vivant non diabétique et atteint du DT2, ce qui permettra d'évaluer in situ les lacunes du traitement des prohormones du DT1. Le stage offrira une exposition unique à la protéomique et à la biochimie des protéines, à des modèles murins du DT1, à la transplantation d'îlots humains/de cellules souches, à la différenciation des cellules souches et à des études cliniques. Le projet comprendra de nombreuses possibilités de collaboration avec d'autres laboratoires de FRDJ-CoE dans les domaines de la différenciation des cellules souches et de l'évaluation de la fonction des cellules bêta, au sein d'un environnement de formation hautement collaboratif, diversifié et favorable, et est susceptible d'avoir un impact sur la pratique clinique et d'améliorer la prédiction et le pronostic du DT1.



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

Titre du projet : Thérapie mécanosensible à base de cellules immunitaires pour une réponse anti-inflammatoire dans le diabète de type 1

Superviseur(s) du projet : Dr Peter Zandstra

Mots clés associés au projet (jusqu'à 10) :

différenciation des cellules souches, cellules immunitaires, mécanotransduction, récepteurs mécanosensibles, matrice extracellulaire, inflammation, mécanobiologie, cytokines anti-inflammatoires, biologie synthétique, diabète de type 1

Objectifs à court et à long terme du projet :

Objectifs à court terme :

- Concevoir des récepteurs synthétiques avec des réglages de tension ajustables pour créer des voies de mécanosignalisation personnalisables, où les mécanismes de détection de la force et de la réponse peuvent être adaptés à des besoins spécifiques.
- Utiliser un protocole défini chimiquement pour différencier les cellules souches pluripotentes humaines (CSPH) en lymphocytes T matures exprimant des récepteurs de surface réglés en fonction de la tension.
- Tester la capacité des cellules T à sécréter des cytokines anti-inflammatoires en réponse aux changements de rigidité de la matrice externe et aux forces de traction en utilisant des substrats synthétiques et des capteurs de tension spécialisés basés sur l'ADN.

Objectifs à long terme :

- Réaliser des études précliniques avec des lymphocytes T mécanosensibles dans des modèles expérimentaux de souris atteints du diabète de type 1 et tester leur capacité à réduire l'inflammation in vivo.

Description du projet, y compris son lien avec les cellules souches et la médecine régénératrice :

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune caractérisée par une attaque du système immunitaire contre les cellules bêta productrices d'insuline, provoquant une inflammation des tissus pancréatiques. Les tissus



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

pancréatiques enflammés sont mécaniquement plus souples que les tissus sains et créent un environnement inhospitalier pour les cellules bêta productrices d'insuline restantes. La recherche proposée vise à développer, à partir de cellules souches, des cellules immunitaires mécanosensibles capables de détecter les changements mécaniques dans les tissus et de réagir en libérant des cytokines anti-inflammatoires, ce qui pourrait réduire l'inflammation. Cette approche innovante est prometteuse pour l'amélioration du traitement du DT1.

Au cours de la première année de ce projet, le ou la stagiaire aura les mandats suivants :

- Concevoir de récepteurs NOTCH synthétiques dotés de circuits mécanosensibles ajustés à une tension déterminée afin que l'échange des messages d'entrée du domaine de liaison du ligand avec un domaine à base d'anticorps permette la détection de diverses protéines de la matrice extracellulaire telles que la laminine, qui se trouve en abondance dans les lésions enflammées. Modifier simultanément l'expression génétique de sortie en substituant le domaine de transcription intracellulaire et en incorporant des gènes cibles effecteurs en aval spécifiques pour les cytokines anti-inflammatoires comme l'interleukine-10.
- Générer des lymphocytes T matures exprimant des récepteurs de surface ajustés à une tension déterminée à partir de cellules souches pluripotentes humaines en utilisant des protocoles définis chimiquement et optimisés par le laboratoire de Zandstra.
- Évaluer la capacité de cellules exprimant des récepteurs mécanosensibles à produire des réponses mécaniques spécifiques à des matrices externes de rigidité et de force de traction variables en utilisant des substrats synthétiques de rigidité variable et des attaches de jauge de tension basées sur l'ADN (TGT). Valider l'expression des gènes en aval par l'inclusion de rapporteurs fluorescents introduits lors de la conception du circuit.

Au cours des années suivantes, le ou la stagiaire aura les mandats suivants :

- Déterminer le potentiel thérapeutique des lymphocytes T mécanosensibles dans des modèles précliniques de DT1 en évaluant leur capacité à produire des cytokines anti-inflammatoires et à réduire l'inflammation dans les tissus cibles in vivo.

Un ou une stagiaire possédant une grande expertise en mécanobiologie dirigera ce projet sous la supervision du professeur Zandstra, expert en bio-ingénierie des cellules souches. Le laboratoire du prof. Zandstra possède une vaste expérience en microscopie, micropatterning, analyse de l'expression génétique de cellules uniques, biologie synthétique et protocoles de développement de cellules immunitaires. Le ou la stagiaire



**Stem Cell
Network**

Powering
Regenerative
Medicine

**Réseau de
Cellules Souches**

Propulsons
la médecine
régénératrice



Breakthrough

T1D™

Formerly JDRF

aura accès aux installations internes, notamment pour la transduction lentivirale, la culture cellulaire, la cytométrie de flux, l'hébergement des animaux et le génotypage. Il ou elle collaborera également en laboratoire avec des experts en biologie synthétique et en séquençage qui enrichiront la profondeur technique du projet. Le ou la stagiaire diffusera les résultats de ce projet par le biais de publications évaluées par des pairs et en donnant des présentations lors de conférences scientifiques.