



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie
et de médecine

Soutenance de thèse

Khaoula Ouchen

Master in bioengineering
Université Hassan 1er, Maroc

Soutiendra en vue de l'obtention du grade de
Doctorat ès sciences de la vie (PhD)
de l'Université de Lausanne

sa thèse intitulée :

**Novel combinatorial gene-engineering
approaches for improving T-cell-based
cancer immunotherapy against solid tumors**

Directeur-trice de thèse :

Monsieur le Professeur
George Coukos

Cette soutenance aura lieu

**Lundi 25 septembre 2023
à 17h00**

Salle B301, Bâtiment CLE, ch. des Boveresses 155, 1066 Epalinges

L'entrée est publique

Prof. Niko GELDNER
Directeur de l'École Doctorale

30.08.23

Approches novatrices en génie génétique combinatoire pour l'amélioration de l'immunothérapie du cancer à base de lymphocytes T contre les tumeurs solides

Résumé (large public)

Au cours des dernières décennies, une approche de traitement contre le cancer appelée immunothérapie a été développée, comprenant différentes stratégies visant à éliminer les cellules cancéreuses. L'une de ces stratégies est le transfert adoptif de lymphocytes T modifiés génétiquement, qui consiste à prélever des lymphocytes T du patient ou de donneurs sains et à les modifier en laboratoire pour qu'ils puissent reconnaître spécifiquement les tumeurs et les éliminer. Cela peut être réalisé en introduisant des récepteurs antigéniques chimériques (CAR) ou des récepteurs de cellules T (TCR) dans les lymphocytes T. Bien que cette approche ait montré une efficacité significative dans le traitement de certains cancers du sang, elle est limitée pour les tumeurs solides en raison des obstacles présents dans le microenvironnement immunosuppresseur des tumeurs (TME).

Cette thèse propose des stratégies innovantes de modification génétique des lymphocytes T pour surmonter ces obstacles. Dans la première partie de l'étude, un nouveau type de vecteur lentiviral est présenté étant un des moyens utilisés en génie génétique pour introduire du matériel génétique spécifique dans les cellules. Ce nouveau vecteur contient deux gènes d'intérêt. Le premier gène introduit un CAR, de manière constitutive, spécifique de l'antigène membranaire spécifique de la prostate (AMSP) pour cibler le cancer de la prostate, ou un TCR spécifique du NYESO1 (antigène du carcinome épidermoïde de l'œsophage de New York 1) exprimé dans diverses tumeurs solides. Le deuxième gène est, par exemple, un microARN (miARN) qui réduit l'expression d'un gène inhibiteur de l'activation des lymphocytes T. Ce gène peut être exprimé de manière constitutive ou induite pour éviter une suractivation indésirable des lymphocytes T dans le TME. De plus, un protocole optimisé de production de particules virales à haute concentration a été développé pour permettre une modification génétique efficace des lymphocytes T tout en garantissant son utilisation clinique.

La deuxième partie de la thèse explore de nouvelles approches combinatoires ciblant plusieurs régulateurs négatifs du signal TCR, en mettant l'accent sur la kinase des progéniteurs hématopoïétiques 1 (HPK1) en tant que cible principale. Après avoir identifié les cibles les plus pertinentes pour cette étude, les effets de l'inhibition de ces gènes sur l'activité antitumorale des lymphocytes T ont été étudiés en utilisant un vecteur rétroviral conçu pour introduire un, deux ou plusieurs miARNs.

Par conséquent, des perturbations individuelles ou concomitantes de la voie du TCR sont générées. L'examen de l'expression de plus de douze gènes lors de la stimulation antigénique a permis la sélection de deux gènes appartenant à la famille des ligases de l'ubiquitine notamment le lymphome à lignée B de casitas b (Cbl-b) et le neural precursor cell-expressed developmentally downregulated protein 4 (NEDD4) pour une inhibition constitutive. La stratégie combinée d'inactivation de HPK1 et Cbl-b a montré des résultats prometteurs retardant significativement la croissance tumorale *in vivo* et augmentant la sécrétion de cytokines *in vitro* lors de la stimulation antigénique. De plus, une approche de criblage utilisant la technologie CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) et une librairie comprenant vingt-sept régulateurs négatifs de la signalisation du TCR a souligné la nécessité d'adopter une approche combinatoire d'inhibition, car l'inactivation individuelle de ces gènes n'a pas amélioré la persistance des lymphocytes T *in vivo*.

Dans l'ensemble, cette thèse contribue au développement de stratégies efficaces de thérapie génique pour les tumeurs solides en utilisant des approches innovantes de génie cellulaire combinatoire visant à améliorer l'efficacité des traitements contre ces types de cancer.