

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : « Immunologie »

Par

« Sümeyye Yayilkan »

« Identification of thymic transcription factors controlling immune tolerance and autoimmunity »

Thèse présentée et soutenue à « Nantes », le « 9 Juillet 2025 »

Unité de recherche : Center for Research in Transplantation and Translational Immunology (CR2TI)
INSERM UMR U1064 – Nantes Université

Rapporteurs avant soutenance :

Eliisa Kekalainen University of Helsinki
Paola Bonfanti University College London

Composition du Jury :

Attention, en cas d'absence d'un des membres du Jury le jour de la soutenance, la composition du jury doit être revue pour s'assurer qu'elle est conforme et devra être répercutée sur la couverture de thèse

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

Examineurs : Eliisa Kekalainen University of Helsinki
Paola Bonfanti University College London
Marianne Burbage Research Scientist with accreditation to supervise research - Team immune response to cancer, U932, Institut Curie, Paris, France

Dir. de thèse : Matthieu Giraud Research Scientist with accreditation to supervise research – Team 2a T cell development and immune tolerance, UMR1064, CR2TI Center for Research in Transplantation and Translational Immunology

Titre : *Identification des facteurs de transcriptions thymiques responsable de la tolérance immune et l'autoimmunité*

Mots clés : Central Tolerance, mTEC, Tissue-specific antigen, sc-ATACseq, Human, HIVEP3

Résumé : L'expression des antigènes tissu-spécifiques (TRAs) par les cellules épithéliales médullaires du thymus (mTECs) est cruciale pour le contrôle de la tolérance et de l'autoimmunité. Le contact entre les thymocytes en développement et les mTECs soutient leur maturation en mTEChi, exprimant des niveaux élevés de CMH-II et un répertoire complet de TRAs. Cette présentation assure la purge des cellules T autoréactives. La maturation des mTECs repose sur la signalisation NF- κ B et se traduit par l'expression du régulateur auto-immune (AIRE), qui induit l'expression d'un large éventail de TRAs. Cependant, une quantité importante de TRAs est exprimée en l'absence d'AIRE et est influencée par le stade de développement du mTEC.

Ainsi, pour découvrir les facteurs manquants impliqués dans la maturation mTEChi et l'expression de TRA, nous avons effectué un (sc)ATAC-seq sur des TECs isolés du thymi humain et de souris. Avec le NF- κ B, nous avons identifié une forte conservation des sites de liaison HIVEP chez les hTEC hi humain et murin, avec une accessibilité spécifique aux gènes TRA. Par conséquent, pour évaluer l'étendue de l'effet de HIVEP3 sur la tolérance centrale individuellement et en combinaison avec Nfkb2, nous avons généré la première lignée de rats déficients à HIVEP3 par édition du génome CRISPR/Cas9. Par conséquent, nous proposons que HIVEP3 joue un rôle clé dans la régulation de la tolérance immunitaire via la maturation mTEChi et la production de TRA.

Title : *Identification of thymic transcription factors controlling immune tolerance and autoimmunity*

Keywords : Tolérance centrale, mTEC, Antigène-tissu-spécifique, sc-ATACseq, Homme, HIVEP3

Abstract : Promiscuous gene expression of tissue-restricted self-antigens (TRAs) by medullary epithelial cells of the thymus (mTECs) is crucial for the control of central T cell tolerance and autoimmunity. The crosstalk between developing thymocytes and mTECs sustains their maturation into mTEChi expressing high levels of major histocompatibility complex class II molecules and a full repertoire of TRAs, whose presentation ensures the purge of autoreactive T cells. mTEC maturation relies on NF- κ B signaling and results in the expression of the autoimmune regulator (AIRE) that induces the expression of a wide array of TRAs. In addition, a significant amount of TRAs is expressed in the absence of AIRE and is influenced by the developmental stage of mTEC. Thus, to uncover the missing factors implicated in mTEChi maturation and TRA expression, we carried out a single-cell (sc)ATAC-seq on isolated TECs from human and mouse thymi.

Remarkably, along with NF- κ B we identified a strong conservation of open chromatin at HIVEP binding sites in human and mouse mTEChi with specific accessibility at TRA genes, therefore indicating a role for HIVEP on the control of mTEChi development and TRA expression. Importantly, scRNA-seq analyses of human TECs revealed that HIVEP3 is the sole HIVEP family member whose expression is exclusive to mTECs. Recently, we successfully created a Nfkb2-deficient rat model. Therefore, to assess the extent of HIVEP3's effect on central tolerance individually and in combination with Nfkb2, we generated the first HIVEP3-deficient rat line by CRISPR/Cas9 genome editing. Hence, we propose that HIVEP3 plays a key role in the regulation of immune tolerance through mTEChi maturation and thereupon production of TRAs