

THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : Immunologie

Par

Mathilde DEIBER

Modulation des interactions entre cellules épithéliales et lymphocytes T en pathologie intestinale : implication de l'axe NLRC5/CMH-I et d'une population de lymphocytes T régulateurs (DP8 α)

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 27 octobre 2026

Unité de recherche : Immunologie et Nouveaux Concepts en Immunothérapie (INCIT), UMR1302, Equipe 3, France

Rapporteurs avant soutenance :

Marie-Cécile MICHALLET Directrice de Recherche, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon

Frédéric BARREAU Chargé de recherche, Institut de recherche en Santé Digestive, Toulouse

Composition du Jury :

Président :	Prénom Nom	Fonction et établissement d'exercice (8)(à préciser après la soutenance)
Examineurs :	Céline Gongora	Directrice de recherche, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier
	Emmanuel Scottet	Directeur de Recherche, Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Intégrée de Nantes Angers
Directrice de thèse :	Anne JARRY	Chargée de Recherche, INCIT
Co-directrice :	Isabelle GROSS	Chargée de Recherche au Centre De Recherche en Biomédecine de Strasbourg

Invité(s)

Emmanuelle Godefroy	Chargée de Recherche, INCIT
Guillaume Sarabayrouse	Maître de conférence des universités à l'Unités des Technologies Chimiques et Biologiques pour la Santé, Paris

Titre : Modulation des interactions entre cellules épithéliales et lymphocytes T en pathologie intestinale : implication de la voie NLRC5/CMH-I et d'une population de lymphocytes T régulateurs (DP8α)

Mots clés : homéostasie intestinale, interactions barrière épithéliale / lymphocytes T / microbiote, pathologie intestinale, MICI, lymphocytes T régulateurs DP8α, voie de signalisation NLR5/CMH-I

Résumé : A l'état physiologique, l'homéostasie intestinale dépend d'un équilibre étroitement contrôlé entre l'épithélium intestinal, le microbiote et les cellules immunitaires, en particulier les lymphocytes T. La perturbation de ces interactions aboutit à un état inflammatoire favorisant l'émergence de pathologies intestinales telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) ou le cancer colorectal. Cette thèse visait à mieux comprendre les interactions bi-directionnelles entre les cellules épithéliales intestinales et différentes populations de lymphocytes T effecteurs ou régulateurs (Treg DP8α) chez l'Homme. Ces travaux, réalisés grâce à d'étroites collaborations avec les cliniciens, ont permis l'accès à des cohortes rétrospectives et prospectives de patients ainsi que le développement de modèles de co-cultures 2D et 3D.

Ce manuscrit présente la finalisation de travaux précédemment initiés, publiés et en cours de publication, démontrant l'implication, d'une part de NLRC5, transactivateur majeur de la voie de présentation antigénique associée au CMH-I dans les cellules épithéliales, dans l'immunosurveillance du cancer colorectal ainsi que son intérêt potentiel comme biomarqueur pronostique pour une meilleure stratification des patients. Ils mettent également en évidence le rôle d'une population non conventionnelle de lymphocytes T régulateurs, les Treg DP8α, réactifs au microbiote intestinal, dans la régulation des réponses immunitaires.

Dans le cadre du projet européen MITI² ("Gut Microbiota-Induced Tregs for Inflammatory Bowel Disease Immunotherapy"), visant à exploiter les propriétés immunosuppressives des Treg DP8α et à rechercher leur potentiel thérapeutique dans les MICI, nous avons généré une biocollection de Treg DP8α et d'organoïdes épithéliaux autologues dérivés de muqueuses de patients atteints de MICI ou de sujets contrôles exposés ou non à un cocktail de cytokines inflammatoires. Après caractérisation et validation de ces organoïdes par qPCR et immunofluorescence, nous avons développé un modèle 3D innovant de co-culture autologue permettant d'évaluer par vidéomicroscopie les interactions dynamiques entre Treg DP8α et cellules épithéliales, ainsi que leur potentiel effet anti-inflammatoire. Nos résultats montrent que les organoïdes générés reproduisent les caractéristiques d'un épithélium intestinal normal ou inflammatoire. Nous montrons également que les Treg DP8α, dont la fréquence est diminuée dans la muqueuse inflammatoire des patients atteints de MICI mais qui peuvent être amplifiés *ex vivo*, interagissent de manière dynamique avec les organoïdes épithéliaux. Ces résultats suggèrent que les Treg DP8α exercent un effet anti-inflammatoire sur l'épithélium soumis à un environnement inflammatoire. Ces travaux établissent ainsi un nouveau modèle autologue permettant d'explorer le dialogue entre Treg DP8α et épithélium intestinal et ouvrent des perspectives pour définir leur rôle dans le maintien de l'homéostasie intestinale et leur potentiel thérapeutique dans les MICI.

Titre : Modulation of interactions between epithelial cells and T lymphocytes in intestinal pathology: involvement of the NLRC5/MHC-I pathway and of a population of regulatory T lymphocytes (DP8α)

Keywords : intestinal homeostasis, epithelial barrier / T lymphocytes / microbiota interactions, intestinal pathology, IBD, DP8α regulatory T lymphocytes, NLRC5/MHC-I signaling pathway

Abstract : Under physiological conditions, intestinal homeostasis relies on a tightly controlled balance between the intestinal epithelium, the microbiota, and immune cells, particularly T lymphocytes. Disruption of these interactions leads to an inflammatory state that promotes the emergence of intestinal diseases such as inflammatory bowel diseases (IBD) or colorectal cancer. This thesis aimed to better understand the bidirectional interactions between intestinal epithelial cells and various effector or regulatory (DP8α Tregs) T cell populations in humans. Carried out through close collaboration with clinicians, this work provided access to retrospective and prospective patient cohorts as well as the development of 2D and 3D co-culture models.

This manuscript presents the completion of previously initiated studies—published and undergoing publication—demonstrating, on the one hand, the involvement of NLRC5, a major transactivator of the MHC-I-associated antigen presentation pathway in epithelial cells, in colorectal cancer immunosurveillance and its potential value as a prognostic biomarker for improved patient stratification. On the other hand, it highlights the role of an unconventional population of gut microbiota-reactive regulatory T lymphocytes, DP8α Tregs, in immune response regulation.

As part of the European MITI² project ("Gut Microbiota-Induced Tregs for Inflammatory Bowel Disease Immunotherapy"), which aims to exploit the immunosuppressive properties of DP8α Tregs and evaluate their therapeutic potential in IBD, we generated a biobank of DP8α Tregs and autologous epithelial organoids derived from the mucosa of IBD patients or control subjects, exposed or not to an inflammatory cytokine cocktail. Following the characterization and validation of these organoids by qPCR and immunofluorescence, we developed an innovative 3D autologous co-culture model to evaluate the dynamic interactions between DP8α Tregs and epithelial cells, as well as their potential anti-inflammatory effect, using videomicroscopy. Our results show that the generated organoids recapitulate the features of normal or inflamed intestinal epithelium. We also demonstrate that DP8α Tregs—whose frequency is reduced in the inflamed mucosa of IBD patients, but which can be expanded *ex vivo*—interact dynamically with epithelial organoids. These findings suggest that DP8α Tregs exert an anti-inflammatory effect on the epithelium when exposed to an inflammatory environment. This work thus establishes a novel autologous model for exploring crosstalk between DP8α Tregs and the intestinal epithelium, opening new perspectives to define their role in maintaining intestinal homeostasis and their therapeutic potential in IBD.