

THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605
Biologie-Santé
Spécialité : IMMUNOLOGIE

Par

Laure CARRÉ

La réponse immunitaire innée aux AAVr : du décryptage mécanistique à l'immunomodulation ciblée

Thèse présentée et soutenue à « Nantes », le 05/05/2026
Unité de recherche : TaRGeT (Inserm UMR 1089)

Rapporteurs avant soutenance :

Sahil Adriouch Professeur des Universités, Université de Rouen

Valérie Zimmermann Directrice de Recherche, IGMM (CNRS)

Composition du Jury :

Examineurs : Hélène Haegel Senior Scientist, ROCHE Pharma

 Antoine Babuty Assistant Hospitalo-Universitaire, CHU de Nantes

Dir. de thèse : Oumeya Adjali Directrice de Recherche, TaRGeT (INSERM, UMR 1089)

Encadrant : Mickaël Guilbaud Ingénieur Principal, TaRGeT (INSERM, UMR 1089)

Titre : La réponse immunitaire innée aux AAVr : du décryptage mécanistique à l'immunomodulation ciblée

Mots clés : AAV, Thérapie Génique, Immunomodulation, Réponse immunitaire innée

Résumé : Les vecteurs viraux adéno-associés recombinants (AAVr) constituent des outils prometteurs en thérapie génique. Toutefois, l'administration de fortes doses, souvent nécessaire pour une efficacité thérapeutique, peut induire des toxicités liées à l'activation de la réponse immunitaire. Cette réponse représente un enjeu majeur pour la sécurité et l'efficacité des traitements, et reste encore incomplètement caractérisée chez l'humain. Cette thèse s'inscrit dans une double approche visant à mieux comprendre et à moduler cette réponse immunitaire. Dans un premier temps, une stratégie d'immunomodulation ciblant le récepteur TLR9 a été évaluée. Une séquence inhibitrice (DIMS) a été intégrée au génome d'un vecteur AAV9r, puis testée *in vivo* dans un modèle de rat à forte dose. Cette approche permet de préserver l'expression du transgène, notamment dans le foie, et de réduire certains marqueurs de toxicité et l'infiltration immunitaire, bien que ses effets restent partiels. Dans un second temps, les mécanismes d'initiation de la réponse innée anti-AAV ont été étudiés dans le sang humain, premier compartiment exposé après injection intraveineuse. Une approche de transcriptomique à l'échelle de la cellule unique a été mise en place afin de caractériser les voies d'activation induites par les sérotypes AAV8 et AAV9, dont l'analyse est actuellement en cours. En parallèle, l'étude de l'internalisation des vecteurs a mis en évidence une capture préférentielle de l'AAV8 par les monocytes et les cellules dendritiques en présence d'anticorps préexistants. Ce travail apporte ainsi une meilleure compréhension des interactions entre AAVr et système immunitaire inné et propose des pistes innovantes pour améliorer la sécurité des thérapies géniques.

Title : Innate immune responses to rAAV: from mechanistic understanding to targeted immunomodulation

Keywords : AAV, Gene Therapy, Immunomodulation, Innate Immune Response

Abstract : Recombinant adeno-associated viral vectors (rAAVs) are promising tools for gene therapy. However, the administration of high doses, often required to achieve therapeutic efficacy, can induce toxicities associated with activation of the immune response. This response represents a major challenge for both the safety and efficacy of treatments and remains incompletely characterized in humans. This thesis follows a dual approach aimed at better understanding and modulating this immune response. First, an immunomodulatory strategy targeting the TLR9 receptor was evaluated. An inhibitory sequence (DIMS) was incorporated into the genome of an rAAV9 vector and assessed *in vivo* in a high-dose rat model. This approach preserved transgene expression, particularly in the liver, and

reduced certain markers of toxicity and immune cell infiltration, although its effects remained partial. Second, the mechanisms underlying the initiation of the innate anti-AAV response were investigated in human blood, the first compartment exposed following intravenous administration. A single-cell transcriptomic approach was implemented to characterize the activation pathways induced by AAV8 and AAV9 serotypes, with analyses currently ongoing. In parallel, the study of vector internalization revealed a preferential uptake of AAV8 by monocytes and dendritic cells in the presence of pre-existing antibodies. Overall, this work provides new insights into the interactions between rAAVs and the innate immune system and highlights innovative strategies to improve the safety of gene therapy approaches.