

## Offre de thèse

### « Développement d'un modèle biomimétique de cavités nasales pour l'étude des anticorps inhalés »

#### 1. Rattachement administratif

**Ecole Doctorale** : Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant – SSBCV

**Spécialité** : Sciences de la Vie et de la Santé

**Unité de Recherche** : Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires – Inserm U1100

**Laboratoire de Recherche** : Aérosolthérapie et biothérapies à visée respiratoire

**Etablissement de préparation de la thèse** : Université de Tours

**Année universitaire de 1ère inscription en doctorat** : 2022-2023

**Date de début de thèse** : 01/10/2022

**Date de limite de candidature** : 11/06/2022

**Thèse interdisciplinaire et réalisée en cotutelle**

#### 2. Direction et encadrement

**Direction de thèse** : HERVE Virginie (HDR) /  [virginie.herve@univ-tours.fr](mailto:virginie.herve@univ-tours.fr)

**Modalités d'encadrement, de suivi de la formation et d'avancement des recherches du doctorant :**

Pour sa thèse, l'étudiant.e sera co-encadré.e par V. Hervé et S. Le Guellec, membres de l'équipe « Aérosolthérapie et biothérapies à visée respiratoire » de l'Inserm UMR1100-CEPR, ayant des expertises complémentaires :

- V. Hervé : En culture cellulaire, plus particulièrement la culture 3D d'épithélium nasal humain primaire à l'interface air-liquide (ALI) mimant l'épithélium nasal humain et en infectiologie, notamment pour le développement de modèles pathologiques
- S. Le Guellec : En modèles anatomiques de cavités nasales 3D stéréolithographiés et métrologie aérosol : conception et mise en situation.

Le projet de thèse se déroulera en collaboration avec le « Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies » (C2N) de Paris Saclay, UMR CNRS UMR9001 (<https://www.c2n.universite-paris-saclay.fr/en/research/mnbf/>) spécialisé dans la conception de micro / nano dispositifs innovants, l'élaboration des procédés de micro-nano-fabrication, le développement et l'intégration de l'instrumentation associée aux dispositifs, et la caractérisation des dispositifs réalisés. Cette équipe fournira les matrices pour permettre la culture des cellules en ALI, en microfluidique, sous flux liquide contrôlé et automatisé.

Dans un premier temps, l'étudiant.e sera formé.e aux techniques de culture cellulaire en interface air-liquide (ALI), puis il/elle pourra développer les différents modèles d'infection en ALI avant de les transposer avec des cellules cultivées sur matrice microfluidique, puis sur cavités nasales 3D. L'étudiant.e sera également formé.e aux techniques de métrologie aérosol et à l'administration nasale de biomédicaments type anticorps anti-infectieux.

La réalisation de cette thèse impliquera aussi une interaction avec le Service d'Oto-Rhino Laryngologie (ORL), notamment avec le Pr. S. Morinière (chef de service) et le Dr C. Aussedat, tous les deux membres de l'équipe « Aérosolthérapie et Biothérapies à visée respiratoire ».

Le suivi de l'avancement des recherches se fera de façon hebdomadaire avec les co-cadrantes et mensuellement avec l'équipe du C2N, les médecins ORL et la directrice de l'équipe, le Dr Heuzé-Vourc'h. Ces échanges seront l'occasion de discuter les avancées des travaux et de la stratégie de valorisation.

### 3. Projet doctoral

**Titre en français : Développement d'un modèle biomimétique de cavités nasales pour l'étude des anticorps inhalés**

**Mots clés :** Modèle biomimétique, épithélium nasal en interface air-liquide, inhalation, modèles stéréolithographiés, système microfluidique, anticorps.

#### Résumé du projet de thèse

Les infections respiratoires d'origine virale étaient déjà responsables de 2,7 millions de décès, en 2015 [1]. Depuis 2019, la pandémie de COVID-19 a causé, à elle seule, plus de 5,89 millions de morts [2]. Dans ce contexte, le traitement et la prévention des infections respiratoires dues à des virus émergents constituent des enjeux sociétaux et médicaux majeurs. La cavité nasale est l'entrée et le site de réplication principal des virus respiratoires, comme le SARS-CoV-2, le virus respiratoire syncytial (VRS) ou celui de la grippe saisonnière (influenza). C'est aussi le site de dissémination des virus vers l'extérieur et vers le poumon, où ils peuvent conduire à des pneumonies fatales. L'inhalation permet l'administration directe de médicaments sous la forme d'une pulvérisation ou d'un aérosol dans le tractus respiratoire. C'est une approche validée en médecine pulmonaire et réanimation, pour délivrer des molécules de façon non invasive tout en améliorant leur index thérapeutique, afin de prévenir et traiter les pathologies respiratoires, notamment inflammatoires et/ou infectieuses [3]. Les

biomédicaments, et plus particulièrement les anticorps (Ac) thérapeutiques, constituent une nouvelle classe d'anti-infectieux. Aujourd'hui, ils sont principalement administrés par voie intraveineuse et sous-cutanée, ce qui n'est pas optimal pour cibler le tractus respiratoire et nécessite l'intervention d'un personnel soignant [4-6]. Plusieurs Ac thérapeutiques inhalés sont actuellement en essai clinique de phase 1 ou 2 pour lutter contre certaines pathologies respiratoires, comme dans l'asthme ou le SARS-CoV-2.

Même si les données précliniques montrent que l'inhalation d'Ac chez l'animal est prometteuse, la transposition à l'homme demeure complexe en raison des différences anatomiques, physiologiques et immunologiques inter-espèces (ex. incompatibilité des dispositifs à visée humaine et dépôts incohérents dans le tractus respiratoire). Ainsi, les résultats cliniques sont parfois décevants, comme pour l'ALX-0171 contre le VRS. Il est donc important de développer de nouveaux modèles expérimentaux, plus prédictifs, pour accélérer le développement des Ac anti-infectieux inhalés.

Le projet de thèse propose de développer un modèle 3D biomimétique reproduisant l'anatomie et l'environnement biologique de la cavité nasale humaine permettant de prédire le dépôt dans les cavités nasales et d'évaluer la toxicité et l'efficacité des Ac thérapeutiques inhalés, à visée nasale, administrés avec un dispositif médical à visée humaine, facilitant ainsi l'extrapolation des résultats à l'homme. Il sera particulièrement pertinent pour le développement de traitements précoces des infections respiratoires virales, comme celles dues aux virus SARS-CoV-2, au virus respiratoire syncytial ou à celui de la grippe, qui se multiplient dans les cavités nasales, puis se disséminent dans le poumon où ils peuvent conduire à des pneumonies sévères. Ce modèle s'inscrit également dans une démarche éthique, en accord avec le principe des 3R (réduire, remplacer et raffiner), pour proposer une alternative non-animale pour le développement des médicaments inhalés.

## **Contexte**

Depuis l'automne 2021, l'Equipe 3 du CEPR et le C2N ont commencé à travailler sur le modèle biomimétique, sur fonds propres. Après plusieurs rencontres et échanges, le C2N a construit les premières puces pour pouvoir réaliser des tests biologiques. Ces essais ont débuté en février 2022, grâce à une stagiaire de la Licence Professionnelle de Tours, réalisant son stage au sein de l'Equipe 3 du CEPR. L'encadrement de la stagiaire est effectué par V. Hervé et par S. Le Guellec.

Ce projet s'inscrit également dans une recherche plus large réunissant un consortium où les deux structures sont déjà partenaires pour une demande ANR PRCE AAPG 2022. Ce consortium est composé de l'équipe INRAe UMR1319 - MICALIS de V. Saint-Criq, de l'équipe INRAe UR 0892 - Virologie et Immunologie Moléculaire de N. Meunier, pour le développement d'un épithélium olfactif, ainsi qu'une entreprise spécialisée en ingénierie tissulaire, Epithelix (entreprise franco-suisse).

## **Méthode**

Le sujet de thèse se divise en trois tâches. Pour des raisons de confidentialité, il n'est pas possible de détailler chacune des tâches:

**Tâche 1.** Développement du système biomimétique de cavités nasales

**Tâche 2.** Application du modèle biomimétique dans un modèle d'infection virale

**Tâche 3.** Etablissement de modèles de co-culture 3D pour mieux mimer la complexité cellulaire des cavités nasales humaines et conception de nouveaux modèles stéréolithographiés de cavités nasales humaines.

## **Résultats attendus**

Le programme de thèse devrait permettre de développer le premier prototype biomimétique de cavités nasales permettant de réaliser des études de dépôts et pharmacologiques des médicaments à visée nasale. Plus précisément, ces travaux permettront de :

1/ Valider le modèle biomimétique pour l'administration nasale de biomédicaments à l'aide de dispositif à visée humaine.

2/ Valider le modèle biomimétique pour mimer des conditions pathologiques et étudier la réponse thérapeutique à un anticorps administré par voie nasale.

3/ Obtenir 3 nouveaux modèles stéréolithographiés de cavités nasales humaines (nouveau-né, enfant de 3-4 ans et adulte avec une déviation de cloison nasale).

## **Références bibliographiques**

[1] GBD 2015 LRI Collaborators, *Lancet Infect Dis.* 2017 doi: 10.1016/S1473-3099(17)30396-1.

[2] WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int/>

[3] Laffleur F, Bauer B. Progress in nasal drug delivery systems. *Int J Pharm.* 2021 doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120994.

[4] Sécher T, et al. Therapeutic antibodies: A new era in the treatment of respiratory diseases? *Pharmacol Ther.* 2018 Sep;189:149-172. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.05.003.

[5] Dall'Acqua WF, et al. Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn). *J Biol Chem.* 2006 Aug 18;281(33):23514-24. doi: 10.1074/jbc.M604292200.

[6] Hart TK, et al. Preclinical efficacy and safety of mepolizumab (SB-240563), a humanized monoclonal antibody to IL-5, in cynomolgus monkeys. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Aug;108(2):250-7. doi: 10.1067/mai.2001.116576.

## **Conditions scientifiques matérielles (conditions de sécurité spécifiques) et financières du projet de recherche**

Le développement du modèle biomimétique fait l'objet de plusieurs demandes de financements (hors financement de thèse) pour permettre de couvrir les frais de fonctionnement et d'équipement nécessaires à sa réalisation.

## **Ouverture Internationale**

Ce champ d'investigation est très dynamique en France et à l'international et devrait offrir l'opportunité d'échanges avec des équipes reconnues du domaine.

## **Collaborations envisagées**

Ce projet de thèse sera réalisé en collaboration avec une équipe spécialisée en microfabrication et en microfluidique (Anne-Marie Haghri-Gosset, CNRS UMR9001) **du « Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies » (C2N) de Paris Saclay**, pour la mise au point d'un système de microfluidique adapté à la croissance et la différenciation de l'épithélium nasal à l'interface air-liquide et permettant son suivi longitudinal (résistance trans-épithéliale, etc.). Cette équipe a déjà développé des systèmes similaires pour des applications cliniques (RHU-ANR BioArtLung). Depuis septembre 2021, des premiers travaux ont été initiés avec le C2N pour dé-risquer différentes étapes du projet (production de matrices biocompatibles, culture d'épithélium nasal sur des polymères adaptés à la microfluidique,...).

## **Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle,...:**

Ce projet technologique et novateur devrait permettre à la fois une valorisation sous la forme de brevets et de publications. Il a été conçu pour permettre d'avancer en parallèle plusieurs tâches pouvant aboutir à une valorisation.

- 1. Mi- 2023 : publication d'une revue concernant les modèles biomimétiques respiratoires.**
- 2. Début 2024 : publication des travaux portant sur le développement de la culture de cellules nasales sur matrices microfluidiques avec des modèles d'infection et l'utilisation d'anticorps thérapeutiques**
- 3. Mi- 2025 : publication sur la partie « modèle biomimétique » : mise au point et culture de cellules en ALI, puis étude de la réponse thérapeutique à un anticorps administré par voie nasale dans un modèle d'infection**

**Attention : Caractère confidentiel des travaux**

**English title: Biomimetic model of human nasal cavities for novel nasal antibody development.**

**Keywords:** Biomimetic model, nasal epithelium, air-liquid interface, inhalation, nasal cast, microfluidic systems, antibody.

**Summary of thesis project**

Viral respiratory infections were already responsible for 2.7 million deaths in 2015 [1]. Since 2019, the COVID-19 pandemic alone has caused more than 5.89 million deaths [2]. In this context, the treatment and prevention of respiratory infections due to emerging viruses are major societal and medical challenges. The nasal cavity is the main entry and replication site of respiratory viruses, such as SARS-CoV-2, respiratory syncytial virus (RSV) or seasonal influenza. It is also the site of spread of viruses to the outside and to the lung, where they can lead to fatal pneumonia.

Inhalation enables the direct administration of drugs either as a spray or aerosol into the respiratory tract. In physician medicine, it is a validated approach for delivering molecules non-invasively while improving their therapeutic index, in order to prevent and treat respiratory diseases, especially respiratory infections [3]. Biologicals, and more particularly therapeutic antibodies (Ab), constitute a new class of anti-infective drugs. Today, they are mainly administered intravenously or subcutaneously, which is not optimal for targeting the respiratory tract and requires the intervention of caregivers [4-6]. Several inhaled therapeutic Ab are currently in phase 1 or 2 clinical trials to treat respiratory diseases, such as asthma or SARS-CoV-2.

Although preclinical data showed that inhalation of Ab in animals is promising, transposition to human remains complex due to inter-species anatomical, physiological and immunological differences (e.g. incompatibility of human devices and inconsistent deposits in the respiratory tract). Thus, clinical results are sometimes disappointing, as for ALX-0171 against RSV. Therefore, it is important to develop new experimental models, more predictive, to accelerate the development of inhaled anti-infective Abs.

This project proposes to develop a biomimetic 3D model reproducing the anatomy and biological environment of the human nasal cavity, to enable pharmacodynamics and toxicity studies and reproduce the distribution of inhaled drugs in the human nasal cavities, taking into account the physiology and anatomy of the upper airways and human respiratory parameters. Thus, it may help bridge the gap between preclinical data and first-in-human study. The biomimetic model would be particularly relevant for the development of early treatments for viral respiratory infections, such as those due to SARS-CoV-2 viruses, respiratory syncytial virus or influenza virus, which replicate in the nasal cavities and then disseminate into the lung where they may lead to severe pneumonia.

This model also fits with the 3Rs principle (replace, reduce and refine), offering a non-animal alternative for the development of inhaled antibodies.

## 4. Profil de poste

### Profil et compétences recherchées

Nous recherchons une personne très motivée et compétente pour réaliser ce doctorat au sein de notre équipe de recherche. Idéalement, le(la) candidat.e aura effectué un Master Recherche en biologie, et possédera des compétences dans des modèles cellulaires acquises lors de stage et/ou expériences professionnelles. Le(la) doctorant.e travaillera avec une équipe multidisciplinaire de chercheurs, ingénieurs et cliniciens (biologie, médecine et technologie) et dans un environnement collaboratif (Equipe C2N de Paris-Saclay).

Le(la) candidat.e devra posséder une formation et des compétences solides concernant la culture cellulaire : une connaissance des épithelia respiratoires sera un avantage et une expérience de culture en interface air-liquide ALI avec des notions sur la résistance transépithéliale serait un avantage. Le(la) candidat.e devra savoir travailler en laboratoire de niveau 2 de biosécurité. Le candidat retenu devra être ingénieux et avoir un intérêt pour la biotechnologie (modèle 3D de cavité nasale, matrice microfluidique). Il(elle) devra faire preuve d'adaptation et d'autonomie. Des horaires flexibles seront parfois nécessaires pour certaines expériences. Le(la) candidat.e aura un devoir de confidentialité en raison du projet.



### Profile and skills required

We are looking for a highly motivated and competent person to carry out this PhD within our research team. Ideally, the candidate will have completed a Research Master's degree in biology, and will possess skills in cellular models (knowledge of respiratory epithelia will be an advantage). The PhD student will work with a multidisciplinary team of researchers, engineers and clinicians (biology, medicine and technology) and in a collaborative environment (C2N team of Paris-Saclay). The candidate must have solid training and skills concerning cell culture (ideally in air-liquid interface – ALI - with notions on transepithelial resistance), and used to work in a level 2 biosafety laboratory. The candidate must also have an interest in the technology (3D model of nasal cavity, microfluidic matrix) and be ingenious to allow the development of ALI culture on microfluidic matrix and 3D model of nasal cavity. He/she will have to show adaptation and autonomy. Flexible hours will sometimes be necessary for certain experiences. The candidate will have a duty of confidentiality due to the project.

**Niveau français requis : C2**

**Niveau anglais requis : B2**

**Obligation de postuler sur ADUM via le lien suivant:**

[https://www.adum.fr/as/ed/voirproposition.pl?site=adumR&matricule\\_prop=42979](https://www.adum.fr/as/ed/voirproposition.pl?site=adumR&matricule_prop=42979)