

# Avis de Soutenance

Madame Hiba HASSOUN

Ingénierie biomédicale

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés  
*Lipoparticules mucopénétrantes pour la délivrance d'ARN messenger par voie respiratoire : de la formulation à l'évaluation in vivo, en vue d'applications dans les maladies infectieuses*

Travaux dirigés par Madame Claire MONGE

Soutenance prévue le **lundi 29 juin 2026** à 14h00

Lieu : IBCP (Salle de conférence) 7 rue du Vercors 69007 Lyon

Salle :

## Composition du jury proposé

Mme Claire MONGE	Chargée de recherche	CNRS Lyon	Directrice de thèse
Mme Virginie ESCRIOU	Directrice de recherche	CNRS Paris	Rapporteuse
Mme Fabienne ARCHER	Directrice de recherche	INRAE Lyon	Examinatrice
M. Eric TARTOUR	Professeur des universités - praticien hospitalier	Université Paris Cité	Rapporteur
M. Thomas TRIMAILLE	Professeur des universités	Lyon 1 Université	Examineur
M. Nicolas TSAPIS	Directeur de recherche	CNRS Paris	Examineur
M. Nicolas AZNAR	CNRS Lyon	Invité	

**Mots-clés :** thérapies à ARN messenger, vaccination mucoale, hybrid lipid-polymer nanoparticles, formulation, nanomedicine, infectious diseases

## Résumé :

Les vaccins à ARN messenger (ARNm) ont démontré un fort potentiel clinique ; cependant, leur administration efficace au niveau des muqueuses respiratoires reste un défi majeur. Les nanoparticules lipidiques conventionnelles (LNPs), bien que validées cliniquement pour une administration systémique, ne sont pas totalement adaptées à une administration muqueuse en raison d'une pénétration limitée du mucus, d'une clairance biologique rapide et d'une résistance insuffisante aux contraintes de cisaillement générées par les dispositifs d'administration tels que les sprays nasaux et les nébuliseurs. De plus, bien que les LNPs induisent une activation de l'immunité innée contribuant à l'efficacité vaccinale, cette réponse peut être moins bien tolérée au niveau des tissus muqueux respiratoires, où une inflammation excessive peut altérer l'intégrité tissulaire et l'efficacité de la délivrance. Dans ce contexte, cette thèse a eu pour objectif de développer des nanoparticules hybrides lipide-polymère, désignées comme des lipoparticules mucopénétrantes

(MuCLPs), résistantes aux contraintes de cisaillement pour la délivrance d'ARNm par voie respiratoire, avec un intérêt pour les maladies infectieuses respiratoires. Après une phase de développement et d'optimisation des formulations, les MuCLPs ont été évaluées sur plusieurs modèles *in vitro*, incluant des cellules d'origine nasale, des cellules dendritiques et des lignées épithéliales pulmonaires, dans lesquelles une internalisation efficace et une transfection élevée ont été observées. Leur performance a ensuite été étudiée dans des modèles respiratoires plus avancés, notamment des cultures en interface air-liquide (ALI), où une transfection accrue a été observée dans les cellules sécrétrices de mucus. Sur la base de ces résultats, une formulation a été sélectionnée pour une évaluation plus approfondie sur des modèles épithéliaux respiratoires humains différenciés, dans lesquels aucune production significative de cytokines pro-inflammatoires n'a été détectée. Cette formulation a également été évaluée sur des organoïdes pulmonaires murins, confirmant son efficacité de transfection dans des systèmes tridimensionnels complexes. L'ensemble de ces résultats met en évidence le fort potentiel des MuCLPs pour une délivrance efficace à travers le mucus. La robustesse de ce système a été démontrée à l'aide de dispositifs d'administration, notamment des sprays nasaux et des nébuliseurs à membrane vibrante, pour lesquels les MuCLPs conservent leurs propriétés physico-chimiques ainsi que leur efficacité de transfection après exposition aux contraintes de cisaillement, contrairement aux LNPs conventionnelles. Des études *in vivo*, réalisées après administration intranasale et par nébulisation pulmonaire, ont montré une expression détectable de l'ARNm dans les voies respiratoires, confirmant la faisabilité de ces deux voies d'administration. Le profil immunitaire après administration intranasale a révélé une réduction du recrutement cellulaire local, notamment une infiltration moindre de neutrophiles par rapport aux LNPs conventionnelles, suggérant une réponse inflammatoire précoce modérée. Dans l'ensemble, ce travail démontre que les MuCLPs constituent une stratégie prometteuse pour la délivrance d'ARNm par voie respiratoire, combinant propriétés mucopénétrantes, résistance aux contraintes de cisaillement et performances biologiques favorables. Ces résultats apportent une première preuve de concept *in vivo* pour la délivrance efficace d'ARNm dans les voies respiratoires. Des études sont actuellement en cours afin d'évaluer leur potentiel immunogène à l'aide d'un candidat vaccin ARNm optimisé ciblant la grippe (H1N1), avec des investigations supplémentaires prévues pour d'autres pathogènes respiratoires, tels que le virus respiratoire syncytial (RSV). Cette plateforme pourrait également être étendue à d'autres applications thérapeutiques, soulignant son potentiel en tant que système de délivrance polyvalent.

### Summary:

Messenger RNA (mRNA) vaccines have demonstrated strong clinical potential; however, their efficient delivery to respiratory mucosal surfaces remains a major challenge. Conventional lipid nanoparticles (LNPs), although clinically validated for systemic administration, are not fully adapted to mucosal delivery due to limited mucus penetration, rapid biological clearance, and insufficient resistance to shear stress generated by delivery devices such as nasal sprays and nebulizers. In addition, while LNPs are known to induce innate immune activation that contributes to vaccine efficacy, this response may be less well tolerated in respiratory mucosal tissues, where excessive inflammation could affect tissue integrity and delivery efficiency. In this context, this thesis aimed to develop hybrid lipid-polymer nanoparticles designated by mucus-penetrating lipoparticles (MuCLPs) that are resistant to shear stress for respiratory mRNA delivery, with a focus on applications in infectious respiratory diseases. Following formulation development and optimization, MuCLPs were evaluated across a range of *in vitro* models, including nasal-derived cells, dendritic cells, and pulmonary epithelial cell lines, where efficient cellular uptake and transfection were observed. Their performance was further investigated in advanced airway models, including air-liquid interface (ALI) cultures, where enhanced transfection was observed in mucus-producing cells. Based on these results, a formulation was selected for further evaluation in fully differentiated human airway epithelial ALI models, in which no significant pro-inflammatory cytokine production was detected.

This formulation was also assessed in murine pulmonary organoids, confirming its transfection capability in complex 3D systems. Altogether, this comprehensive evaluation across advanced in vitro airway models highlights the strong potential of the MuCLP formulation for mucus-penetrating delivery. The robustness of this system was further demonstrated using delivery devices, including nasal sprays and vibrating mesh nebulizers, where MuCLPs maintained their physicochemical properties and transfection efficiency following exposure to shear stress, in contrast to conventional LNP. In vivo studies conducted following both intranasal administration and nebulization-based pulmonary delivery showed detectable mRNA expression in the respiratory tract, supporting the feasibility of both delivery routes. Immune profiling after intranasal administration revealed reduced local cellular recruitment, including lower neutrophil infiltration compared to conventional LNPs, suggesting a moderated early inflammatory response. Overall, this work demonstrates that the MuCLP platform represents a promising approach for respiratory mRNA delivery, combining mucus-penetrating properties, resistance to shear stress, and favorable biological performance. These results provide a first in vivo proof of concept for effective mRNA delivery to the respiratory tract. Ongoing studies are currently evaluating their immunogenic potential using an optimized mRNA vaccine candidate targeting influenza (H1N1), with further investigations planned for other respiratory pathogens such as respiratory syncytial virus (RSV). Beyond infectious diseases, this platform may also be extended to other therapeutic applications, highlighting its potential as a versatile delivery system.