

## Proposition de sujet de thèse (ED Galilée – campagne 2021)

### Antigénicité, immunogénicité et effet pathogène des « Neutrophil Extracellular Traps » (NET) dans la polyarthrite rhumatoïde.

**Unité de recherche :** UMR 1125 Inserm, Li2P, « Physiopathologie, cibles et thérapies de la polyarthrite rhumatoïde », Université Sorbonne Paris Nord, UFR SMBH, 1 rue de Chablis, 93 000 Bobigny.

**Directeur de thèse :** Pr. Patrice Decker. **Email:** [patrice.decker@univ-paris13.fr](mailto:patrice.decker@univ-paris13.fr); **Téléphone:** 01 48 38 77 91.

**Résumé :** La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie **inflammatoire chronique et auto-immune**. Elle touche 200 000 patients en France. Elle conduit à la destruction des articulations et entraîne un handicap, une mort prématurée et des coûts élevés pour la société. Son étiologie reste inconnue. Malgré les progrès thérapeutiques récents et le développement des biothérapies, seuls 25% des patients entrent en rémission prolongée. **De nouvelles cibles thérapeutiques doivent par conséquent être identifiées.**

La PR est caractérisée par la production d'**auto-anticorps**, les **ACPA** (anticorps anti-protéines citrullinées, qui reconnaissent des protéines contenant une modification post-traductionnelle, la citrulline). Ils sont hautement spécifiques de la maladie (ils servent de marqueur diagnostique voire pronostique de la PR) et certains sont pathogènes. Cette production d'ACPA implique une **stimulation antigénique** et une **activation** des **lymphocytes B auto-réactifs**. Les lymphocytes B sont de plus des cellules présentatrices d'antigène (**CPA**). Néanmoins, les **auto-antigènes reconnus** et les **signaux d'activation associés** restent mal caractérisés.

Par ailleurs, les polynucléaires neutrophiles (**PNN**), cellules en général décrites comme pro-inflammatoires et pourtant relativement peu étudiées dans la PR, sont activées et recrutées dans les articulations de patients PR (1). Cependant, des données récentes, dont les nôtres, rapportent des capacités d'immuno-modulation (2). Les PNN activés produisent des **NET** (« neutrophil extracellular traps »), des fragments d'ADN associés à des protéines des granules et expulsés par les PNN. La formation de NET a été décrite à l'origine comme un mécanisme de l'immunité innée ciblant les bactéries. On suppose maintenant que les **NET** sont **pathogènes** dans plusieurs maladies auto-immunes et inflammatoires, dont la PR. **Nous avons démontré** que les NET, en particulier les NET de patients PR, sont **pro-inflammatoires** sur des cellules au repos (2). A l'inverse, ils peuvent moduler la réponse de cellules fortement activées, d'où la nécessité d'une régulation fine.

Nous avons montré que les **NET sont reconnus par les anticorps de patients PR** (2). Nos résultats indiquent également que les **NET activent les lymphocytes B**. Puisque les NET peuvent contenir des protéines citrullinées, les NET pourraient être soit des cibles des ACPA, soit induire les ACPA.

Notre **hypothèse** est donc que les NET agissent comme stimulus antigénique chez les patients PR, aboutissant à la **production des autoanticorps**.

Nous **étudierons la capacité des NET à induire la production d'autoanticorps** in vitro (patients PR) et in vivo (souris immunisées). Nous caractériserons les anticorps et déterminerons leur spécificité. Enfin, nous analyserons les mécanismes impliqués et les conséquences pathogènes. Il s'agit d'un sujet **très compétitif**.

### **Objectifs :**

1. déterminer la capacité des NET à activer les lymphocytes B de patients PR de manière antigène-spécifique.
2. tester la production d'anticorps par les lymphocytes B activés.
3. caractériser la spécificité des anticorps induits (anti-NET, ACPA).
4. déterminer la capacité des lymphocytes B ayant reconnus les NET à présenter cet antigène (rôle de CPA) aux lymphocytes T auto-réactifs NET-spécifiques et à les activer.
5. isoler et caractériser les lymphocytes B NET-spécifiques.
6. analyser la capacité des NET à induire des anticorps in vivo et caractériser ces anticorps..
7. étudier les conséquences pathogènes des anticorps induits in vivo, en particulier le développement des arthrites.

**A terme**, cette étude vise à identifier les stimuli induisant la production d'auto-anticorps pathogènes par les lymphocytes B de patients, dans le but de moduler spécifiquement et négativement cette réponse.

**Notre expertise** sur les PNN et les NET, les mécanismes inflammatoires, la physiopathologie de la PR, les modèles murins d'arthrite, ainsi que notre accès aux **prélèvements de patients** PR (Service de Rhumatologie, hôpital Avicenne) assurent un bon développement de ce projet.

**Techniques :** tri cellulaire (magnétique ou par cytométrie), culture cellulaire (chez l'homme et la souris), cytométrie en flux, ELISA, immunoblot, biochimie, microscopie par immunofluorescence, modèles murins, RNA-seq.

**Nos références récentes sur les PNN et les NET :** (1) Ribon...and Decker, Front Immunol, 2019. (2) Ribon ...and Decker, J Autoimmun, 2019. (3) Lindau...and Decker, Ann Rheum Dis, 2014. (4) Lindau...and Decker, Eur J Immunol, 2013.