

Concours de recrutement des doctorants sur les allocations doctorales de l'ED Galilée

Campagne 2024

Sujet de thèse

Proposé par Pr Natacha Bessis

E-mail : natacha.bessis@univ-paris13.fr

Tel : 01 48 38 76 98

UMR INSERM 1125 « Physiopathologie, cibles et thérapies de la polyarthrite rhumatoïde »
Université Sorbonne Paris Nord, UFR SMBH, Bobigny

Identité des lymphocytes T régulateurs de l'environnement inflammatoire dans un modèle expérimental d'autoimmunité du système nerveux central.

Contexte scientifique :

Les maladies autoimmunes (MAI) comme la polyarthrite rhumatoïde (PR) et la sclérose en plaques (SEP) partagent un grand nombre de mécanismes immunologiques communs. La recherche dans le domaine de ces pathologies a permis le succès remarquable des thérapies ciblées. Dans la PR, elle a permis d'améliorer la prise en charge des patients (anti-TNF, anti-IL-6-récepteur, anti-JAK, anti-CD20) dès la fin des années 1990, et, un peu plus tardivement, à la fin des années 2000 dans la SEP (anti-VLA4, anti-CD52, anti-CD20...). Cependant, parmi les patients atteints de PR traités par une thérapie ciblée, 75% présentent une réponse insuffisante à 6 mois. Dans la SEP, l'arsenal thérapeutique n'est pas encore assez développé, et nombre important de patients ne répondent pas, ou plus, aux traitements. L'identification de cibles thérapeutiques additionnelles, conjointement à celle de facteurs prédictifs de la réponse aux traitements ciblés, restent indispensables pour améliorer les traitements de ces deux pathologies.

Dans un bon nombre des maladies autoimmunes, dont la PR et la SEP, il existe une altération fonctionnelle des **lymphocytes T régulateurs** (Treg), cellules immunosuppressives dont le rôle est de limiter l'inflammation et l'autoimmunité. Dans un environnement inflammatoire, **sur le site de la destruction tissulaire, l'identité des Treg est modifiée**, menant à des altérations épigénétiques et phénotypiques, et aboutissant à une perte de leur capacité régulatrice. La compréhension de ces phénomènes pourrait permettre de mieux définir le déficit fonctionnel des **Treg sur le site de l'inflammation**. Il est donc nécessaire de disposer d'outils permettant l'étude de ces cellules au sein du site inflammatoire, articulations dans la PR, système nerveux central (SNC : cerveau et moelle épinière) dans la SEP. Si notre laboratoire travaille principalement sur la PR, **nous avons choisi dans ce projet de nous intéresser à un modèle expérimental de SEP, l'encéphalomyélite autoimmune expérimentale (EAE)** pour deux raisons : (i) les mécanismes immunologiques de la SEP et de la PR, notamment ceux concernant les Treg, sont comparables (Front Immunol. 2022;13:973813); (ii) les modèles animaux de SEP permettent d'étudier l'inflammation localement, car l'extraction des leucocytes du SNC est possible chez la souris, ce qui n'est pas le cas pour l'articulation (petite taille). Quant aux patients, les prélèvements de synoviale et/ou de liquide synoviaux sont très rares.

Résultats préliminaires

Nous avons très récemment étudié, par une approche RNA-seq, les gènes régulés de manière différentielle entre les Treg du SNC et de la périphérie (rate) dans le modèle de l'EAE. Nous avons mis en évidence une expression différentielle de plus de 6000 gènes entre ces deux compartiments. L'un d'entre eux (que l'on nommera ici « X ») est surexprimé par les Treg du CNS en comparaison des Treg de la rate et a retenu notre attention, notamment car son expression par les Treg, n'a jamais été démontrée.

Objectif et réalisation du projet de doctorat :

L'objectif général de ce projet est **d'appréhender de manière qualitative et fonctionnelle les modifications phénotypiques des Treg présents sur le site local de l'inflammation dans un contexte autoimmun.**

Ce projet de thèse vise précisément à élucider le rôle de la protéine X codé par le gène X dans la fonction des Treg sur le site inflammatoire. En utilisant des souris déficientes pour ce gène (souris $X^{-/-}$ dont nous disposons déjà), le travail de thèse suivra trois axes complémentaires :

1. Comparer le phénotype des Treg de souris $X^{-/-}$ et de souris sauvages
 - Etude du transcriptome (RNAseq)
 - Etude de l'expression des marqueurs de suppression, activation et stabilité par cytométrie en flux
 - Etude de la méthylation du promoteur de FoxP3 (TSDR) par séquençage bisulfite
2. Comparer la fonction suppressive des Treg chez des souris $X^{-/-}$ et des souris sauvages
 - Tests d'inhibition de la prolifération et de la synthèse de cytokines comme l'IFN γ des T CD4 non Treg (T conv) par les Treg
 - Evaluation de l'activité ATPasique par les Treg
 - Evaluation de la capacité de différenciation des Tconv en Treg
 - Capacité suppressive des Treg *in vivo* dans un modèle murin de colite
3. Etudier les conséquences sur les Treg de l'induction de l'EAE chez les $X^{-/-}$ et les souris sauvages
 - Evaluation clinique et histologique (cerveau) de l'EAE
 - Caractérisation phénotypique des Tregs de la rate et du CNS (transcriptomique, cytométrie en flux)

Notre **expertise** sur les Treg, les mécanismes inflammatoires et les modèles murins d'autoimmunité, assurent un bon développement de ce projet.

A terme, cette étude vise à comprendre le déficit fonctionnel des Tregs au cours de l'inflammation chronique.