

## Proposition de sujet de thèse (ED Galilée – campagne 2019)

**Titre : Activité pro-inflammatoire et effet adjuvant des « Neutrophil Extracellular Traps » (NET) dans un contexte physiologique et pathologique.**

**Unité de recherche :** UMR 1125 Inserm, Li2P, « Physiopathologie, cibles et thérapies de la polyarthrite rhumatoïde », Université Paris 13, 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.

Les polynucléaires neutrophiles (PNN), cellules en général décrites comme pro-inflammatoires et pourtant peu étudiées dans la PR, sont activées et recrutées dans les articulations de patients. Cependant, des données récentes, dont les nôtres, rapportent des capacités d'immuno-modulation. Les PNN activés produisent des **NET** (neutrophil extracellular traps), des fragments de chromatine associés à des protéines cytoplasmiques et expulsés par les PNN. Ce processus, la NETose, a été décrit à l'origine comme un mécanisme de l'immunité innée ciblant les bactéries. On suppose maintenant que la **NETose est pathogène** dans plusieurs maladies auto-immunes et inflammatoires, dont la PR. Nous venons de démontrer que les NET, en particulier les NET de patients PR, sont **pro-inflammatoires** sur des cellules au repos (1). A l'inverse, ils peuvent moduler la réponse de cellules fortement activées, d'où la nécessité d'une régulation fine.

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 (et servent de marqueur 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, l'**antigène** et les **signaux d'activation associés** ne sont pas encore caractérisés. Puisque la NETose est associée à la citrullination de certaines protéines, les NET pourraient être soit des cibles des ACPA, soit induire les ACPA.

Notre **hypothèse**, soutenue par nos résultats, est que **les NET activent les lymphocytes B**. Nous suggérons de plus que les NET agissent à **deux niveaux** : **1-** comme **signal pro-inflammatoire** sur divers types cellulaires, dont les lymphocytes B, indépendamment de leur activité antigénique, activité exacerbée chez le patient PR en partie après reconnaissance par les ACPA ; **2-** comme **stimulus antigénique** chez le patient PR, cette double activité pouvant conférer aux NET le rôle d'**adjuvant**.

Nous étudions l'activation des lymphocytes B dans un contexte physiologique (donneurs sains, souris naïves) et pathologique (patients PR, modèles murins d'arthrite) afin de **déterminer les conséquences pathogènes de la NETose dans la PR** (excès ou composition altérée des NET). Ces résultats pourraient expliquer en partie le déséquilibre de la réponse immunitaire observé dans la PR. Il s'agit d'un sujet **très compétitif**.

### Objectifs :

1. déterminer la capacité physiologique des NET à activer les lymphocytes B (rôle de CPA et sécrétion de cytokines).
2. caractériser le mécanisme impliqué : effet direct ou coopération avec d'autres types cellulaires, conséquences sur ces cellules, récepteurs impliqués dans la reconnaissance des NET.
3. comparer l'activité des NET de donneurs sains et de patients PR, comparer la réponse des lymphocytes B de donneurs sains et de patients PR afin de déterminer si les patients sont plus sensibles à l'activation.
4. étudier les conséquences et les mécanismes pathogènes dans la PR : amplification par les ACPA, induction de la sécrétion d'ACPA.
5. analyser le rôle d'adjuvant des NET in vivo.

**Notre expertise** sur les PNN et les NET, les mécanismes inflammatoires et la physiopathologie de la PR, ainsi que les modèles murins d'arthrite assure un bon développement de ce projet.

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

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