

Proposition de sujet de thèse (ED 146 Galilée – campagne 2023)

Antigénicité, immunogénicité et effet pathogène des « Neutrophil Extracellular Traps » (NET) dans la polyarthrite rhumatoïde : impact de l'environnement.

Discipline : biologie, médecine, immunologie.

Mots clés : inflammation, polyarthrite rhumatoïde, physiopathologie, interactions cellulaires.

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; **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 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.

Par ailleurs, la PR est caractérisée par la production d'**auto-anticorps**, impliquant une **stimulation antigénique** et une **activation des lymphocytes B auto-réactifs**. Néanmoins, les mécanismes d'activation des lymphocytes B, les auto-antigènes reconnus et les signaux d'activation associés restent mal caractérisés. Il a récemment été démontré que les patients PR produisent des anticorps anti-NET. Ces anticorps sont encore mal caractérisés et on ne sait pas s'ils sont pathogènes.

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**.

Notre **hypothèse** est donc que les NET agissent à la fois comme stimulus antigénique et signal pro-inflammatoire chez les patients PR.

Le but du projet est de **déterminer les effets pathogènes des NET**. 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. De plus, nous analyserons les mécanismes impliqués dans l'activation des macrophages et des lymphocytes B en réponse aux NET et leurs conséquences, notamment sur d'autres types cellulaires. Enfin, nous étudierons l'impact de l'environnement ainsi que l'effet de stimuli potentiellement associés à la PR sur le développement de ces mécanismes.

Objectifs :

1. déterminer la capacité des NET à activer les macrophages et les lymphocytes B de patients PR en prenant en compte l'impact de l'environnement.
2. déterminer les mécanismes impliqués et les conséquences fonctionnelles.
3. analyser la capacité des NET à induire des anticorps in vivo et caractériser la spécificité des anticorps anti-NET induits.
4. identifier de nouveaux stimuli physiologiques capables d'induire les NET.
5. étudier les conséquences pathogènes des NET/anticorps anti-NET in vitro et in vivo, en particulier le développement des arthrites.

A terme, cette étude vise à identifier les stimuli induisant des NET chez les patients PR et la capacité de ces NET à activer différentes cellules immunitaires et la production d'auto-anticorps, dans le but de moduler spécifiquement et négativement ces réponses.

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) et de **sujets sains** 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.

Sélection de nos références 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.