

Titre du sujet : Impact des corps cétoniques sur la biologie des lymphocytes T régulateurs

- Unité de recherche : INSERM U1125 (Li2P)
- Discipline : Sciences de la Vie et de la Santé
- Direction de thèse : Natacha Bessis ; co-encadrante : Léa Paolini
- Contact : natacha.bessis@univ-paris13.fr, 01 48 38 76 98 et lea.paolini@univ-paris13.fr
- Domaine de recherche : Immunologie
- Mots clés : lymphocytes T régulateurs, métabolisme, corps cétoniques, immunorégulation, autoimmunité, inflammation

Sujet de thèse

Les lymphocytes T régulateurs (Tregs) forment une sous-population de lymphocytes T CD4+ dotée de propriétés immunorégulatrices, jouant un rôle essentiel dans le contrôle des réponses immunitaires dirigées contre le soi. Ils exercent leur fonction suppressive par contact cellulaire (expression de molécules co-inhibitrices inhibant l'activation des cellules présentatrices d'antigènes), par la modulation de facteurs cellulaires (utilisation de l'IL-2 au détriment des LT effecteurs ; par synthèse de cytokines immunorégulatrices dont l'IL-10 et par hydrolyse de l'ATP en adénosine).

Les Tregs se distinguent des autres lymphocytes T par leur métabolisme : ils ont recours essentiellement à la phosphorylation oxydative et utilisent des substrats comme le lactate ou les acides gras comme substrat énergétique, tandis que les LT effecteurs utilisent préférentiellement le glucose.

Dans un grand nombre de maladies auto-immunes, dont la polyarthrite rhumatoïde (PR), l'activité et la stabilité des Treg sont altérées. Aussi, l'identification de stratégies visant à restaurer ou à renforcer leur activité suppressive représente un axe de recherche prometteur sur le plan thérapeutique.

Des données préliminaires obtenues au sein de notre équipe ont permis d'identifier les corps cétoniques (CC) comme des métabolites capables, *in vitro*, de potentialiser les propriétés suppressives des Tregs humains issus de cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) de donneurs sains (EFS Saint-Louis) (données non publiées). Les CC sont des métabolites naturels produits par le foie en cas de jeun ou de régime cétogène, et qui possèdent des propriétés de signalisation cellulaire. Leur rôle dans la modulation de la biologie des Tregs demeure à ce jour peu exploré.

Dans ce contexte, ce projet vise à caractériser les mécanismes par lesquels les corps cétoniques modulent la fonction et la stabilité des Tregs, et à évaluer si cette approche métabolique pourrait

constituer une stratégie thérapeutique innovante pour restaurer la tolérance immunitaire dans la PR.

Ce projet s'articulera autour de quatre étapes complémentaires.

La première étape **(i)** visera à approfondir **l'étude des propriétés immunosuppressives des Tregs** triés à partir de PBMC de sujets sains, **cultivés en présence de CC *in vitro***, ainsi qu'à **l'identification des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués**. Nous analyserons l'expression de molécules co-inhibitrices (par exemple CTLA-4) et de marqueurs de suppression (par exemple TNFR2, CD39) ainsi que la sécrétion d'IL-10 par les Tregs cultivés en présence ou en absence de CC, ainsi que leur capacité à inhiber la prolifération des LT effecteurs. Nous examinerons également l'impact des CC sur la stabilité (expression de FoxP3, méthylation du TSDR) et les capacités migratoires des Tregs issus de donneurs sains.

La deuxième étape **(ii)** sera consacrée à **l'étude du métabolisme des Tregs** exposés ou non aux CC, et visera notamment à déterminer si les effets phénotypiques observés sont dépendants d'une augmentation de **l'activité mitochondriale**. L'impact des CC sur le métabolisme des Tregs sera évalué par cytométrie en flux (sondes fluorescentes), par analyse biochimique (dosage) et par analyse de la consommation d'oxygène *in vitro* et de production de protons (technologie Seahorse®, plateforme extérieure USPN). Afin d'évaluer le rôle de la métabolisation des CC dans l'acquisition du phénotype supprimeur des Treg, des inhibiteurs chimiques et des siRNA ciblant les enzymes clés de la métabolisation des CC seront utilisés.

La troisième étape **(iii)** s'appuiera sur le fait que les mitochondries des Tregs sont dysfonctionnelles en contexte inflammatoire. En collaboration avec le service de Rhumatologie de l'hôpital Avicenne (Pr L. Semerano), nous confirmerons que les **mitochondries des Tregs sont dysfonctionnelles chez des patients atteints de PR**, puis nous évaluerons la **capacité des CC à restaurer la fonctionnalité mitochondriale *in vitro*** ainsi que le phénotype et la stabilité de ces cellules après culture.

Enfin, une quatrième étape **(iv)** sera dédiée à **l'évaluation de l'impact des CC sur la fonction des Tregs *in vivo***. Pour ce faire, des souris seront soumises à un régime cétogène ou recevront des CC par voie intrapéritonéale. Le phénotype et la fréquence des Tregs seront analysés chez des souris naïves, ainsi que dans deux modèles de maladies auto-immunes dont notre laboratoire a l'expertise : le modèle d'encéphalomyélite auto-immune expérimentale, et le modèle d'arthrite au collagène.

Ce projet de thèse s'appuie sur l'expertise complémentaire de la directrice de thèse, Natacha Bessis, spécialisée dans la biologie des Tregs, et de la co-encadrante, Léa Paolini, dont les travaux portent sur les liens entre métabolisme cellulaire et fonction des cellules immunitaires. Il bénéficiera des plateformes technologiques de l'USPN, notamment TisCell13 pour la cytométrie en flux et l'animalerie, et permettra d'explorer le rôle de l'immunométabolisme comme stratégie de modulation de l'activité des Tregs.