

TITRE DU PROJET : « Etude de l'effet thérapeutique des HuMoSC au cours de la sclérodermie »

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse(1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :
Nom : SAMSON
Prénom : Maxime

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- Mom et label de l'unité de recherche :

UMR INSERM RIGHT 1098, Equipe TAI-IT, axe Auto-immunité

- Localisation

Université de Bourgogne, UFR Sciences de Santé
Bâtiment B3, 15 bd du Mal de Lattre de Tassigny, 21070 DIJON

- Nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu

Pr Maxime Samson

- Adresse courriel du contact scientifique

Maxime.samson@chu-dijon.fr

- Description du projet (2 pages maximum)

La sclérodermie systémique (SSc) est une maladie auto-immune complexe du tissu conjonctif impliquant trois axes physiopathologiques interconnectés : une atteinte vasculaire aboutissant à un remodelage vasculaire et une diminution des vaisseaux, une dysrégulation du système immunitaire et une suractivation des fibroblastes qui augmentent leur production de collagène à l'origine du processus de fibrose de la peau et des organes.

Résumé non exhaustif des mécanismes physiopathologiques impliqués au cours de la SSc :

Les cellules endothéliales jouent un rôle central dans la pathogenèse de la vasculopathie. Au cours de la SSc il existe un défaut d'angiogénèse malgré des taux élevés de facteurs angiogéniques et une altération du tonus vasculaire avec une production excessive de facteurs vasoconstricteurs par l'endothélium, comme l'endothéline, et une diminution des facteurs vasodilatateurs, tels que le NO et la prostacycline. Les lésions vasculaires entraînent progressivement une perte importante de capillaires et de petits vaisseaux chez les patients atteints de SSc responsable d'une hypoxie tissulaire chronique. Les dommages microvasculaires conduisent également à un remodelage des plus gros vaisseaux caractérisé par un épaissement de la paroi vasculaire dû à l'excès de prolifération des péricytes et des CML vasculaires. En plus de leur rôle dans les lésions vasculaires, les cellules endothéliales participent également à l'inflammation et à la fibrose *via* la sécrétion d'IL-33.

Les patients atteints de SSc présentent aussi une activation de la réponse immunitaire innée et adaptative. Le système immunitaire inné, et en particulier les TLR, participe à la pathogenèse de la SSc, notamment une surexpression de TLR4 et de TLR9 a été décrite dans la peau et les poumons des patients SSc. Cette surexpression de TLR4 et TLR9 est corrélée à

la sévérité de la fibrose. De plus, l'activation de TLR4 et TLR9 augmente la sensibilité des fibroblastes à l'effet du TGF- β et leur production de collagène. Les monocytes CD16+ sont augmentés dans le sang des patients atteints de SSc et ce nombre est corrélé à la sévérité de la fibrose cutanée ainsi qu'à l'atteinte pulmonaire. Un déséquilibre de la balance M1/M2 est observé en faveur d'une polarisation M2 (CD163+ CD204+). Ces qui produisent des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-4, l'IL-13 et l'IL-10, et des médiateurs favorisant la fibrose des tissus tels que le TGF- β , le VEGF, CCL2 et l'ET-1. La réponse immunitaire adaptative est aussi perturbée avec une prédominance des Th2 caractérisés par la sécrétion d'IL-4 et d'IL-13, deux interleukines impliquées dans la fibrose. Par ailleurs, il a été montré que la population de Treg était altérée soit quantitativement soit fonctionnellement. Au cours de la SSc, le nombre de LB activés est augmenté avec production d'IL-6 et de TGF- β , favorisant la prolifération des fibroblastes et la production de collagène de type I. Les LB activés peuvent se différencier en plasmocytes responsables de production d'auto-Ac notamment anti-Scl70 et anti-centromères.

Au cours de cette pathologie, les fibroblastes sont activés de manière incontrôlée et persistante entraînant une forte prolifération et conduisant à une forte sécrétion de protéines de matricielles responsable d'une fibrose de la peau et des organes. De plus, au cours de la SSc, une transition phénotypique des fibroblastes s'opère vers un phénotype de myofibroblastes une activité sécrétoire plus intense. L'apoptose des fibroblastes des patients SSc est inhibée par la présence de surnageant de cellules endothéliales apoptotiques de patients atteints de SSc. De plus, les myofibroblastes représentent une source importante de TGF- β , *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF), de l'ET-1, PGDF (aussi produit par les cellules endothéliales, les plaquettes, les macrophages) impliqués dans le processus de fibrose. Enfin, les ROS sécrétés par les macrophages activés mais aussi les fibroblastes des patients atteints de SSc contribuent aussi à la fibrose.

Les HuMoSC :

Les HuMoSC, pour *Human Monocyte-derived Suppressor Cells*, sont une sous-population de cellules suppressives humaines d'origine monocytaire qui ont été générées au sein du laboratoire grâce à un procédé original. Ces cellules ont des propriétés immunosuppressives. Notre équipe a déjà montré que ces cellules inhibaient la réponse immunitaire in vitro et in vivo dans des modèles murins. De plus nous avons aussi montré que ces HuMoSC diminuaient le remodelage vasculaire et l'activité des fibroblastes in vitro et ex vivo à partir d'échantillons de vaisseaux de patients atteints d'artérite à cellules géantes.

Le travail de thèse permettra l'étude de l'effet des HuMoSC chez des patients atteints de SSc en utilisant des échantillons sanguins et cutanés (protocole déposé au CPP). Ce travail comportera plusieurs axes :

- 1- Etude de l'effet des HuMoSC sur la réponse immunitaire des patients SSc
 - Phénotypage étendu des cellules immunitaires chez les patients SSc
 - Etude des propriétés immunosuppressives des HuMoSC générées à partir du sang des patients (inhibition de prolifération des LT, effet sur la polarisation des LT, étude quantitative des Treg induits avec et sans la présence des HuMoSC, inhibition de la sécrétion d'Ig par les LB, sécrétion de cytokines notamment IL-4, IL-13, IL-10, TGF- β , IL-6, VEGF, CCL2 et ET-1.
- 2- Etude de l'effet des HuMoSC des patients SSc sur les cellules endothéliales
 - Etude de l'effet des HuMoSC sur l'angiogénèse (migration et prolifération des cellules endothéliales, dosage des facteurs proangiogéniques et anti-

angiogéniques facteurs anti-angiogéniques tels que l'angiostatine, le CXCL4, la TSP-1 et l'IL-4, dosage de l'IL-33)

- 3- Etude de l'effet des HuMoSC des patients SSc sur la fibrose
 - Etude comparative du transcriptome des fibroblastes des patients atteints de SSc avec les volontaires sains avant et après culture avec les HuMoSC par single cell RNAseq.
 - Etude de l'effet des HuMoSC sur les propriétés des fibroblastes sains activés par du TGF ou par ligand de TLR4 et TLR9 (prolifération, mesure par RTPCR et dosage des différents collagènes)
 - Etude de l'effet des HuMoSC sur les propriétés des fibroblastes des patients atteints de SSc (recueillies après biopsie cutanée en peau saine) activés par du TGF ou par ligand de TLR4 et TLR9 (prolifération, mesure par RTPCR et dosage des différents collagènes).

- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)

Financement sur dotation propre de l'équipe et par l'association de recherche affiliée au service de Médecine interne (30KE par an)

Demandes de bourse de recherche auprès de sociétés savantes (SNFMI et GRFS) pour les 2^{èmes} et 3^{èmes} années

- Connaissances et compétences requises :

Bonnes connaissances en immunologie

Techniques de culture cellulaire et de biologie moléculaire maîtrisées

Pratique de la cytométrie

Connaissances en omics appréciées

Résumé en français (limité chacun à 1800 caractères)

La sclérodémie systémique (SSc) est une maladie auto-immune complexe du tissu conjonctif impliquant trois axes physiopathologiques interconnectés : une atteinte vasculaire aboutissant à un remodelage vasculaire et une diminution des vaisseaux, une dysrégulation du système immunitaire et une suractivation des fibroblastes qui augmentent leur production de collagène à l'origine du processus de fibrose de la peau et des organes. Les HuMoSC, pour *Human Monocyte-derived Suppressor Cells*, sont une sous-population de cellules suppressives humaines d'origine monocytaire qui ont été générées au sein du laboratoire grâce à un procédé original. Ces cellules ont des propriétés immunosuppressives. Notre équipe a déjà montré que ces cellules inhibaient la réponse immunitaire in vitro et in vivo dans des modèles murins. De plus nous avons aussi montré que ces HuMoSC diminuaient le remodelage vasculaire et l'activité des fibroblastes in vitro et ex vivo à partir d'échantillons de vaisseaux de patients atteints d'artérite à cellules géantes. Le travail de thèse étudiera l'effet des HuMoSC générées à partir du sang des patients atteints de SSc en utilisant des échantillons sanguins et cutanés des patients et des volontaires sains (protocole déposé au CPP). Ce travail comportera l'étude de l'effet des HuMoSC sur la réponse immunitaire des patients SSc, notamment inhibition cellulaire et sécrétion de cytokines, sur les cellules endothéliales, notamment prolifération cellulaire et sécrétion de facteurs pro et anti-angiogéniques, et sur l'activation et la prolifération des fibroblastes sains et des fibroblastes de patients atteints de SSc. Ces travaux permettront peut-être d'identifier une nouvelle thérapie pour cette maladie orpheline.

Résumé en anglais (limité chacun à 1800 caractères)

Systemic sclerosis (SSc) is a complex autoimmune disease of connective tissue involving three interconnected pathophysiological axes: vascular damage leading to vascular remodeling and vessel shrinkage, dysregulation of the immune system and over-activation of fibroblasts which increase their production of collagen, leading to fibrosis of the skin and organs. HuMoSCs (Human Monocyte-derived Suppressor Cells) are a subpopulation of human monocyte-derived suppressor cells generated in the laboratory using an original process. These cells have immunosuppressive properties. Our team has already shown that these cells inhibit the immune response in vitro and in vivo in mouse models. We have also shown that these HuMoSCs reduce vascular remodeling and fibroblast activity in vitro and ex vivo using vessel samples from patients with giant cell arteritis. The thesis work will study the effect of HuMoSCs generated from the blood of SSc patients, using blood and skin samples from patients and healthy volunteers (protocol filed with the CPP). This work will involve studying the effect of HuMoSCs on the immune response of SSc patients, including cell inhibition and cytokine secretion, on endothelial cells, including cell proliferation and secretion of pro- and anti-angiogenic factors, and on the activation and proliferation of healthy fibroblasts and fibroblasts from SSc patients. This work may lead to the identification of a new therapy for this orphan disease.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Biochimie

Santé, médecine humaine, vétérinaire

Mots clés : Immunorégulation, MDSC, maladies auto-immunes, sclérodémie, thérapie cellulaire