



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **27 mars 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **FAUTEUX-DANIEL Sébastien**

Titre de la thèse : « Étude du rôle de l'inflammasome et de la kinase Styk1 dans la régulation des lymphocytes cytotoxiques ».



Résumé

Lors de la reconnaissance d'une cellule cible, les lymphocytes cytotoxiques T CD8 et Natural Killer (NK) opèrent un relargage polarisé de vésicules cytotoxiques contenant des molécules effectrices, notamment la perforine (PRF1) et le granzyme B. Le dysfonctionnement de l'exocytose des granules cytotoxiques est responsable d'une susceptibilité accrue aux pathogènes intracellulaires qui s'accompagne de l'activation continue et anarchique des lymphocytes cytotoxiques et des macrophages. Ce phénomène conduit à la lymphohistiocytose hémophagocytaire (HLH), un syndrome auto-inflammatoire fatal en absence d'intervention thérapeutique. Les mutations des gènes codant pour la perforine (PRF-1) ou pour certaines des protéines impliquées dans la biogénèse ou le transport vésiculaire des granules cytotoxiques sont causales des formes familiales ou primaires de la HLH (FHL). La HLH fait également partie des complications secondaires aux infections à *herpesviridae* et à certains désordres immunologiques importants. En effet, on retrouve celle-ci chez les patients souffrant d'arthrite juvénile idiopathique (SoJIA). Dans ce contexte, l'étiologie demeure toutefois incomprise.

Au moment d'entreprendre les travaux présentés dans ce manuscrit, le premier cas de HLH induite par une mutation menant à l'activation constitutive de la composante NLRC4 de l'inflammasome était décrit. L'inflammasome est une structure multimérique composée d'un récepteur cytosolique, de la protéine échafaud ASC et de la Caspase-1. On le retrouve notamment chez les macrophages et cellules dendritiques, permettant ainsi la reconnaissance de signaux pathogéniques (PAMP) ou de danger (DAMP). L'activation de l'inflammasome mène à la maturation des pro-formes de l'IL-1 β et l'IL-18 ainsi qu'à leur sécrétion. L'activation constitutive de NLRC4 étant suffisante au déclenchement de la HLH, nous avons tenté de comprendre si cette structure y était essentielle dans le cadre des défauts génétiques de cytotoxicité. Avec pour objectif de répondre à cette question, nous avons invalidé l'inflammasome en abrogeant la protéine ASC ou Caspase-1 dans le modèle murin de HLH déficient pour la perforine (PRF1 $-/-$). Nous avons également testé l'hypothèse qu'un déficit de cytotoxicité pouvait expliquer le développement de la HLH chez les patients souffrant de SoJIA.

Nos résultats montrent que l'inflammasome est nécessaire à la production d'IL-18 lors de la HLH mais qu'il n'est pas essentiel au développement de la maladie dans le cadre des FHL. Par ailleurs, nous montrons que la cytotoxicité des cellules NK semble normale chez les patients atteints de SoJIA, ce qui suggère que les mécanismes immunologiques à l'origine de la HLH dans les FHL et dans les maladies autoinflammatoires comme la SoJIA sont distincts.

Dans la seconde partie de ce manuscrit, nous avons étudié sur le rôle de la sérine/thréonine/tyrosine kinase Styk1 dans la régulation des lymphocytes cytotoxiques NK. Ces derniers sont responsables du contrôle immunitaire précoce des pathogènes intracellulaires et

contribuent à l'immunosurveillance des cellules tumorales. Suite à leur activation, ils relâchent de très grandes quantités d'IFN- γ et de TNF- α , faisant notamment le lien entre l'immunité innée et adaptative. La reconnaissance des cellules cibles par les lymphocytes NK est gouvernée par l'expression d'un éventail de récepteurs qui transduisent des signaux, activateurs ou inhibiteurs, et dont la balance se traduit par l'activation ou la tolérance. Ces récepteurs sont codés au sein de deux complexes génétiques très denses, le complexe de cytotoxicité naturelle (NCR) et le complexe des récepteurs des leucocytes (LRC). Au moment de commencer ces travaux, nous avons révélé que l'expression de la kinase Styk1 fait partie de la signature transcriptionnelle des lymphocytes NK. Sa fonction dans le système immunitaire demeure toutefois inconnue. Néanmoins, la localisation génétique favorable de Styk1, près du NCR, ainsi que son implication dans la voie PI3K-AKT, en faisaient un candidat potentiel de régulation des lymphocytes NK. Afin de connaître le rôle de Styk1 dans le développement et les fonctions effectrices des lymphocytes NK, nous avons donc généré une souris pour laquelle Styk1 est invalidé. Nos résultats confirment que Styk1 est exprimée de façon spécifique par les cellules NK, et n'est pas retrouvée chez les autres types de cellules immunitaires, en particulier les cellules lymphoïdes innées (ILCs). Nous avons également détecté une diminution de l'activité constitutive de la voie AKT/mTOR dans les cellules NK, mais le développement, l'homéostasie et la fonction des cellules NK sont cependant normales dans les souris déficientes en Styk1.