



Université Claude Bernard



Lyon 1

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **30 septembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur BENECH Nicolas**

Titre de la thèse : « *Etude du rôle de la signalisation du TGF-beta au sein des lymphocytes T dans la tolérance au microbiote intestinal* »

### Résumé



Avec  $3 \cdot 10^{13}$  cellules humaines pour  $3.8 \cdot 10^{13}$  bactéries, plus de la moitié des cellules de notre corps est constituée d'éléments porteurs d'antigène potentiellement immunogènes. Une régulation fine de la réponse immune intra-muqueuse visant à empêcher une réaction inflammatoire délétère et maintenir un état symbiotique entre le microbiote digestif et son hôte existe donc chez les mammifères. Les mécanismes mis en jeu dans cette régulation cruciale restent cependant mal connus.

Au cours de mon travail de thèse, j'ai exploré le rôle du TGF- $\beta$ , une cytokine hautement immunorégulatrice, dans le maintien de la tolérance des lymphocytes T au microbiote intestinal. Au moyen d'approches génétiques, j'ai pu montrer que l'ablation sélective dans les lymphocytes T de SMAD4 et TRIM-33, deux acteurs de la signalisation du TGF- $\beta$ , conduit à une gastro-entéocolite diffuse chronique sous la dépendance du microbiote intestinal puisque résolutive sous traitement antibiotique. Cette inflammation chronique est associée à une forte augmentation de la phosphorylation de STAT-3 au sein de l'épithélium associée au développement de cancer colo-rectal (CCR). L'étude du profil immunitaire montre que cette altération de la signalisation du TGF- $\beta$  au sein des lymphocytes T induit un défaut intrinsèque de génération des lymphocytes T régulateurs FOXP3<sup>pos</sup>ROR $\gamma$ t<sup>pos</sup> au niveau de la *lamina propria* et une activation constitutive des lymphocytes T effecteurs CD8<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup> associée à la production d'interleukine(IL)-17 et d'interferon- $\gamma$ . Cette activation des lymphocytes T est associée à une modification de la composition du microbiote intestinal dont le transfert n'est pas suffisant pour entraîner une inflammation chronique ou induire un CCR chez les souris de type sauvage. Ainsi l'altération combinée de la signalisation du TGF- $\beta$  dans les cellules T et la présence de bactéries commensales sont responsables de l'inflammation colique chronique conduisant à une transformation tumorale. Par ailleurs l'apport d'anti-IL-17 prévient l'inflammation STAT-3 dépendante et les signes de transformation.

Ainsi, ce travail révèle que le signal du TGF- $\beta$  au sein spécifiquement des lymphocytes T est indispensable au maintien d'une tolérance vis-à-vis du microbiote intestinal et prévient d'une colite chronique pouvant évoluer en CCR.

## Summary

With  $3 \cdot 10^{13}$  human cells for  $3.8 \cdot 10^{13}$  bacteria, more than half of the cells in our body are made up of potentially immunogenic antigen-carrying elements. Hence mammals developed a fine regulation of the intramucosal immune response which aims at preventing a deleterious inflammatory reaction and maintaining a symbiotic state between the digestive microbiota and its host. However, the mechanisms involved in this key regulation remain poorly understood.

During my PhD, I explored the role of TGF- $\beta$ , a highly immunoregulatory cytokine, in maintaining the tolerance of T lymphocytes to the gut microbiota. Using genetic approaches, I demonstrated that the selective ablation in T lymphocytes of SMAD4 and TRIM-33, two actors of the TGF- $\beta$  signaling, lead to chronic diffuse gastro-enterocolitis under the dependence of intestinal microbiota that was resolved under antibiotic treatment. This chronic inflammation was associated with a strong increase in the phosphorylation of STAT-3 within the colonic epithelium and the development of colorectal cancer (CRC). The deep analysis of the immune system showed that the alteration of the signaling of TGF- $\beta$  within T lymphocytes was directly responsible of a drastic defect in the generation of FOXP3<sup>pos</sup>ROR $\gamma$ t<sup>pos</sup> regulatory T lymphocytes within the lamina propria. In addition, we reported a constitutive activation of the CD8 + and CD4 T cells associated with the exacerbated production of interleukin (IL) -17 and interferon- $\gamma$ . This activation of T lymphocytes was concomitant with changing of the intestinal microbiota composition, whereas fecal transplant in wild-type mice was insufficient to cause chronic inflammation and CRC. Thus, the combined alteration of TGF- $\beta$  signaling in T cells and the presence of commensal bacteria were responsible for chronic colonic inflammation leading to tumorigenesis. In addition, anti-IL-17 treatment prevented from STAT-3 dependent inflammation and signs of colonic transformation.

In sum, this PhD Work reveals that the by signaling into T lymphocytes of the TGF- $\beta$  is essential for maintaining tolerance to the intestinal microbiota and prevents chronic colitis progress towards CRC.