

# Table des matières

|  |    |
|--|----|
| Résumé .....   | 4  |
| Abréviations .....   | 5  |
| I. INTRODUCTION .....  | 8  |
| 1. Fonction de la glande thyroïde .....  | 8  |
| 1.1. Anatomie et histologie de la thyroïde chez l'Homme .....                                    | 8  |
| 1.2. Synthèse des hormones thyroïdiennes chez l'Homme .....                                      | 9  |
| 1.2.1. L'iode et le symporteur NIS .....   | 9  |
| 1.2.2. La Pendrine et l'Anoctamine-1 .....   | 10 |
| 1.2.3. La thyroperoxydase et la thyroglobuline .....   | 11 |
| 1.3. La régulation du métabolisme thyroïdien .....   | 14 |
| 1.3.1. La TSH et son récepteur .....   | 14 |
| 1.3.2. Régulation par l'iode : l'effet Wolff-Chaikoff .....                                      | 15 |
| 1.4. La folliculogenèse et la polarité baso-apicale des thyrocytes .....                         | 16 |
| 2. DUOX : système générateur de peroxyde d'hydrogène.....  | 17 |
| 2.1. Le système générateur de peroxyde d'hydrogène .....   | 17 |
| 2.2. Les gènes et les protéines DUOX .....   | 18 |
| 2.3. Les facteurs de maturation des DUOX : les protéines DUOXA .....                             | 19 |
| 2.4. Le rôle des protéines DUOXA dans la production du peroxyde d'hydrogène<br>par les DUOX..... | 20 |
| 2.5. La régulation de la production de peroxyde d'hydrogène .....                                | 21 |
| 2.6. L'hypothyroïdie congénitale et les DUOX.....  | 21 |
| 2.7. Le rôle des DUOX dans d'autres tissus.....  | 23 |
| 3. Régulation transcriptionnelle des <i>DUOX</i> .....   | 25 |
| 3.1. La régulation des <i>DUOX</i> dans la thyroïde .....  | 25 |
| 3.2. La régulation des <i>DUOX</i> dans les autres tissus.....                                   | 26 |
| 3.3. L'importance de la régulation des DUOX .....  | 27 |
| 3.4. Le peroxyde d'hydrogène : un facteur cancérigène thyroïdien ? .....                         | 27 |
| 4. L'interleukine-4: son rôle dans le système immunitaire et dans la thyroïde.....               | 29 |
| 4.1. Rôle de l'interleukine-4 dans le système immunitaire .....                                  | 29 |
| 4.2. Les maladies autoimmunes de la thyroïde et l'IL-4.....                                      | 30 |
| 4.3. Les modèles expérimentaux des maladies autoimmunes thyroïdiennes et l'IL-4.....             | 32 |
| II. OBJECTIFS DU TRAVAIL et QUESTIONS POSEES .....   | 34 |
| III. MATERIEL ET METHODES.....   | 35 |
| 1. Immunoprécipitation de la chromatine et analyse par qPCR. ....                                | 35 |
| 2. Génération de la souris transgénique Thyr-IL-4.....   | 37 |
| 2.1. Vérification de l'intégrité de la cassette de transgénèse .....                             | 37 |

|  |    |
|--|----|
| 2.2. Génotypage .....  | 37 |
| 2.3. Quantification des copies du transgène .....  | 38 |
| 3. Protocoles expérimentaux sur les souris .....   | 39 |
| 3.1. Anesthésie et prélèvement sanguin .....   | 39 |
| 3.2. Protocole expérimental : Traitement au thiocyanate .....  | 39 |
| 3.3. Protocole expérimental : Traitement au perchlorate et régime carencé en iode sur des souris âgées de 3 et 10 mois .....   | 40 |
| 3.4. Protocole expérimental : Régime carencé en iode sur des souris sevrées de 4-5 semaines .....  | 40 |
| 3.5. Protocole expérimental : Immunisation génétique contre le récepteur TSH humain par injection de son ADNc .....  | 41 |
| 3.5.1. Contrôle de l'immunisation contre le TSHr humain par la détection d'anticorps dans le sérum par cytométrie de flux .....  | 41 |
| 3.5.2. Marquage immunohistochimique CD45 .....   | 42 |
| 4. Analyses statistiques .....   | 42 |
| IV. RESULTATS.....   | 43 |
| 1. Régulation <i>in vitro</i> de l'expression des DUOX par l'IL-4 dans les thyrocytes humains et murins .....  | 43 |
| Contexte scientifique .....  | 43 |
| Résumé de l'article .....  | 44 |
| Résultats complémentaires aux données publiées .....   | 46 |
| 1.1. Recherche de la liaison du facteur de transcription STAT6 au promoteur des gènes <i>DUOX2</i> et <i>DUOXA2</i> .....  | 46 |
| 1.2. Comparaison du niveau d'expression des gènes <i>DUOX/DUOXA</i> entre le tissu thyroïdien normal et le tissu thyroïdien de patients atteints de la maladie de Graves ..... | 49 |
| 1.3. Comparaison du niveau d'expression de gènes thyroïdiens entre les cultures primaires et le tissu thyroïdien de souris C57BL/6J .....                                      | 49 |
| 1.4. Modification de l'expression des gènes murins <i>Duox2</i> et <i>Duoxa2</i> selon les conditions de culture (présence de sérum).....                                      | 50 |
| 1.5. Etude de l'effet de l'IL-4 sur l'expression des gènes thyroïdiens murins en culture primaire .....  | 51 |
| 1.6. Conclusions .....   | 52 |
| 2. Génération et étude du phénotype de la souris transgénique Thy-IL-4 surexprimant l'IL-4 dans la thyroïde .....  | 54 |
| Contexte scientifique .....  | 54 |
| Résumé de l'article .....  | 55 |
| Résultats complémentaires aux données publiées .....   | 58 |
| 2.1. Caractérisation <i>in vitro</i> de la cassette de transgénèse.....  | 58 |
| 2.2. Génotypage et caractérisation du nombre de copies du transgène dans les différentes lignées de souris.....  | 59 |
| 2.3. Analyse de la production d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dans les cultures primaires .....  | 61 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 2.4. | Investigation d'une régulation des gènes antioxydants en réponse à une production d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> plus élevée chez les souris Thyr-IL-4 ..... | 61  |
| 2.5. | Etude d'une infiltration leucocytaire dans le tissu thyroïdien des souris transgéniques ...   | 63  |
| 2.6. | Mesure de l'expression de la protéine Tg.....   | 64  |
| 2.7. | Conclusions .....   | 65  |
| 3.   | Etude du phénotype thyroïdien des souris Thyr-IL-4 après traitement avec des drogues antithyroïdiennes .....  | 67  |
| 3.1. | Etude du phénotype thyroïdien en réponse à un traitement perchlorate et un régime carencé en iode .....   | 67  |
| 3.2. | Analyse du phénotype thyroïdien suite à un régime carencé en iode chez des souris âgées de 4 semaines en début de traitement .....                            | 69  |
| 3.3. | Conclusions .....   | 72  |
| 4.   | Investigation d'une destruction du parenchyme thyroïdien sous traitement au thiocyanate.....  | 74  |
| 5.   | Investigation d'une composante inflammatoire après immunisation génétique contre le récepteur TSH humain .....  | 80  |
| 5.1. | Les souris Thyr-IL-4 produisent des anticorps circulants anti-hTSHr .....   | 80  |
| 5.2. | Morphologie des souris Thyr-IL-4 après immunisation par l'ADNc codant pour le hTSHr   | 81  |
| 5.3. | Analyse d'une infiltration leucocytaire après immunisation avec l'ADNc hTSHR .....  | 84  |
| 5.4. | Essai d'une quatrième immunisation.....   | 85  |
| 5.5. | Conclusions .....   | 86  |
| V.   | DISCUSSION et PERSPECTIVES.....   | 87  |
| 1.   | L'expression des gènes <i>DUOX</i> et <i>DUOXA</i> est régulée par l'IL-4 et la régulation varie selon l'espèce.....  | 87  |
| 2.   | Caractérisation phénotypique des souris Thyr-IL-4.....  | 94  |
| 3.   | Etude du phénotype inflammatoire des thyroïdes Thyr-IL-4 dans un modèle expérimental de thyroïdite .....  | 101 |
| VI.  | REFERENCES .....  | 103 |
| VII. | ANNEXES.....  | 123 |
| 1.   | Annexe n°1 : Article n°1.....   | 123 |
| 2.   | Annexe n°2 : Article n°2 .....  | 124 |
| 3.   | Annexe n°3 : .....  | 125 |