

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 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 ₂ O ₂ dans les cultures primaires	61

2.4.	Investigation d'une régulation des gènes antioxydants en réponse à une production d'H ₂ O ₂ 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