

Table des matières

Remerciements	i
Résumé.....	iii
Table des matières	iv
Abréviations	ix
1 Introduction	1
1.1 Les lymphocytes T	1
1.1.1 Développement des lymphocytes T.....	2
1.1.2 Maintenance des lymphocytes T en périphérie	3
1.1.2.1 Les signaux TCR.....	3
1.1.2.2 La cytokine IL-7	4
1.1.3 Activation des lymphocytes T	5
1.1.4 Phase de contraction et développement des lymphocytes T mémoire.....	6
1.1.5 Prolifération homéostatique.....	7
1.1.5.1 Mécanismes soutenant la prolifération homéostatique.....	8
1.1.5.2 Relevance physiologique de la prolifération homéostatique	10
1.1.6 Réaction du greffon contre l'hôte.....	11
1.1.6.1 La GVHD aiguë	12
1.1.6.2 La GVHD chronique.....	12
1.1.6.3 Lien GVHD/prolifération homéostatique	13
1.2 Métabolisme et réponse immune.....	13
1.2.1 Transition métabolique au cours d'une réponse immune	13
1.2.1.1 Métabolisme des lymphocytes T naïfs	14
1.2.1.2 Métabolisme des lymphocytes T effecteurs.....	14
1.2.1.3 Métabolisme des lymphocytes T mémoire	15
1.2.2 Les mitochondries	16

1.2.2.1	Biogénèse des mitochondries.....	16
1.2.2.2	Dynamique fusion/fission des mitochondries.....	17
1.2.2.3	Dégradation des mitochondries : autophagie, mitophagie et MVD	18
1.2.2.4	Le rôle clé des mitochondries dans les lymphocytes T	19
1.2.3	Les ROS	21
1.2.3.1	Le rôle des ROS dans les lymphocytes T.....	22
1.2.4	Métabolisme adopté par les lymphocytes T au cours d'une prolifération homéostatique.....	24
1.2.5	Métabolisme adopté par les lymphocytes T au cours d'une GVHD.....	25
1.3	L'AMPK	27
1.3.1	Structure de l'AMPK.....	27
1.3.2	Régulation de l'AMPK	27
1.3.3	Les fonctions de l'AMPK	29
1.3.3.1	Inhibition des voies anaboliques/ de biosynthèse	29
1.3.3.2	Activation des voies cataboliques et d'entrée des nutriments.....	30
1.3.3.3	Homéostasie des mitochondries	31
1.3.3.4	Maintenance de l'équilibre rédox	32
1.3.3.5	Soutien de la croissance en condition défavorable.....	33
1.3.4	Le rôle de l'AMPK dans les lymphocytes T.....	34
2	But.....	36
3	Résultats.....	37
3.1	L'AMPK favorise la reconstitution du pool des lymphocytes T effecteurs/ mémoire dans un modèle de transfert de moelle osseuse	37
3.2	L'AMPK promeut la prolifération homéostatique des lymphocytes T.....	38
3.3	L'AMPK accentue la sévérité de la réaction du greffon contre l'hôte	39
3.4	Développement d'un modèle de prolifération homéostatique <i>in vitro</i>	40

3.5	L'AMPK est nécessaire pour la prolifération homéostatique des lymphocytes T <i>in vitro</i> ..	41
3.6	L'AMPK, bien que dispensable pour la réponse précoce à l'IL-7 et à la stimulation TCR, soutient les proliférations prolongées.....	42
3.7	L'AMPK ne régule pas la prolifération homéostatique <i>in vitro</i> via la transcription des gènes	43
3.8	L'AMPK maintient l'homéostasie des mitochondries	44
3.9	L'AMPK limite la production de ROS et protège les lymphocytes T contre la mortalité induite par les ROS.....	46
3.10	Le traitement antioxydant restaure en partie la prolifération des lymphocytes T AMPK-KO	47
4	Discussion.....	48
4.1	Modèle de prolifération homéostatique <i>in vitro</i>	48
4.1.1	Rôle de l'IL-7 et des antigènes supportant la prolifération induite.....	48
4.1.2	Culture en présence de 2-ME	49
4.2	AMPK et prolifération dans un hôte lymphopénique	50
4.2.1	Implication des lymphocytes T régulateurs	52
4.2.2	Effet de l'IL-7	53
4.2.3	Rôle du maintien de mitochondries efficaces et de la balance rédox.....	53
4.2.4	Lien entre la sécrétion d'IFN γ et l'AMPK	55
4.3	AMPK, acteur clé du métabolisme des lymphocytes T	56
4.3.1	Potentiel de membrane mitochondriale et ROS.....	56
4.3.1.1	Les lymphocytes T AMPK-KO présenteraient un défaut d'activité des complexes mitochondriaux ?	57
4.3.1.2	Les lymphocytes T AMPK-KO auraient une augmentation du proton leak ?	57
4.3.2	Polarisation et concentration en Ca ²⁺ dans les mitochondries	58
4.3.3	Maintien de mitochondries fonctionnelles.....	59
4.3.3.1	Mitochondries et cycle cellulaire.....	59

4.3.3.2	Mécanismes soutenant le renouvellement accru des mitochondries dans les lymphocytes T AMPK-KO	60
4.3.4	Source des ROS dans les lymphocytes T	61
4.3.5	Switch glycolytique	63
4.3.6	Contrôle du métabolisme des lipides par l'AMPK	63
4.3.6.1	AMPK - métabolisme du glycérol – synthèse des membranes	64
4.3.6.2	AMPK - métabolisme des acides gras complexes.....	64
4.3.6.3	AMPK – oxydation des lipides.....	65
4.4	Moduler l'activité de l'AMPK au cours de réponses anti-tumorales	65
5	Conclusion	68
6	Matériels et méthodes.....	69
6.1	Les souris	69
6.2	Solutions et milieux de culture.....	69
6.3	Extraction des globules blancs	71
6.3.1	Extraction des cellules du thymus, de la rate et des MLN.....	71
6.3.2	Extraction des cellules de l'intestin	71
6.3.3	Extraction des cellules du foie	72
6.3.4	Extraction des cellules du sang	72
6.4	Purification des cellules.....	72
6.4.1	Purification des cellules de moelle	72
6.4.2	Purification des lymphocytes T CD4 ⁺ et CD8 ⁺ totaux.....	73
6.4.3	Purification des lymphocytes T auxiliaires naïfs	73
6.4.3.1	Purification par EasySep (Stemcell)	73
6.4.3.2	Purification par SORT	73
6.4.4	Purification des lymphocytes T cytolytiques naïfs.....	74
6.4.5	Purification des cellules dendritiques.....	74

6.5	Mise en culture.....	75
6.5.1	Culture des lymphocytes T naïfs	75
6.5.2	Différenciation des lymphocytes T auxiliaires naïfs en lymphocytes LTh1 effecteurs et mémoire.....	75
6.5.3	Prolifération homéostatique <i>in vitro</i>	75
6.5.4	Mixed Lymphocyte Reaction (MLR).....	76
6.5.5	Prolifération induite en réponse des peptides OVA	76
6.6	Transfert de moelle osseuse	76
6.7	Prolifération homéostatique <i>in vivo</i> et expériences de « parkage »	76
6.8	Graft-versus-host disease (GVHD).....	77
6.9	Analyse des cellules par cytométrie de flux.....	77
6.9.1	Marquage extracellulaire classique	77
6.9.2	Marquage intracellulaire classique	78
6.9.3	Marquage intracellulaire des protéines phosphorylées.....	78
6.9.4	Marquages mitochondriaux.....	78
6.9.5	Marquage des ROS.....	79
6.9.6	Marquage CFSE (Carboxyfluorescein succinimidyl ester).....	79
6.9.7	Liste des anticorps utilisés en cytométrie de flux.....	79
6.10	Seahorse	80
6.11	Survie cellulaire.....	81
6.12	Microscopie électronique en transmission	81
6.13	Analyse de l'expression génique par RNA-seq	81
6.14	Analyse statistique.....	82
7	Références bibliographiques.....	83
8	Article	100