

Table des matières

Remerciements	1
Résumé	2
Table des matières	3
Abréviations	6
I. Introduction	11
1. La réponse immunitaire adaptative	11
1.1 La réponse humorale	12
1.2 La réponse cellulaire	12
1.3 Les lymphocytes T	12
1.4 Les lymphocytes T non conventionnels.....	13
2. Activation des lymphocytes T	13
2.1 Les lymphocytes T CD8 ⁺	14
2.2 Les lymphocytes T CD4 ⁺	14
2.3 Spécialisation fonctionnelle des lymphocytes T CD4 ⁺	15
3. Les lymphocytes T régulateurs	23
3.1 Historique.....	23
3.2 Origine et développement	23
3.3 Le facteur de transcription Foxp3	26
3.4 Mécanismes de suppression généraux	28
3.5 Plasticité et spécialisation des Treg.....	32
3.6 Migration des lymphocytes T régulateurs.....	36
3.7 Implication des Treg dans les maladies inflammatoires	38
4. L'axe PHD-HIF	39
4.1 Généralités	39
4.2 Les enzymes PHD	40
4.3 Les facteurs HIF	45
4.4 Rôle de l'axe PHD2-HIF α dans les cellules immunitaires.....	50
II. Objectifs du travail	55
III. Résultats et discussion	56
1. Partie I: Caractérisation des souris PHD2^{ΔTreg}	56
1.1. Les souris PHD2 ^{ΔTreg} présentent un syndrome inflammatoire spontané	56
1.2. Activation spontanée et acquisition d'un phénotype « pro-Th1 » des lymphocytes T effecteurs dans les organes lymphoïdes secondaires des souris PHD2 ^{ΔTreg}	57
1.3. Le phénotype des Treg invalidés pour PHD2 est altéré <i>in vivo</i>	58
1.4. La délétion de PHD2 n'affecte pas l'induction et la fonction suppressive des Treg <i>in vitro</i> ..	60
1.5. La fonction des Treg déficients pour PHD2 est altérée <i>in vivo</i>	60
1.6. Les souris PHD2 ^{ΔTreg} ne sont pas plus susceptibles à une entérite induite par l'agoniste du CD3	62
1.7. Les souris PHD2 ^{ΔTreg} sont plus sensibles à une colite induite chimiquement au Dextran sulfate de sodium	62
1.8. Les souris PHD2 ^{ΔTreg} sont plus sensibles à une infection au toxoplasme	64
1.9. Les souris PHD2 ^{ΔTreg} sont plus susceptibles à l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE)	64

2. Partie II : Etude de l'implication de l'IFN-γ, HIF1α et HIF2α dans le phénotype des souris PHD2ΔTreg	65
2.1. La délétion de l'IFN- γ dans les souris PHD2 Δ Treg atténue le développement du phénotype inflammatoire des souris	66
2.2. La délétion de HIF1 α ou de HIF2 α spécifiquement dans les Treg n'altère pas le phénotype des souris	66
2.3. La stabilisation de HIF1 α dans les souris PHD2 Δ Treg n'est pas responsable du phénotype inflammatoire de ces souris	67
2.4. La stabilisation de HIF2 α dans les souris PHD2 Δ Treg est principalement responsable du phénotype inflammatoire de ces souris	68
3. Partie III : Etude du/des mécanisme(s) moléculaire(s) impliqué(s) dans le phénotype des souris PHD2ΔTreg	69
3.1. La délétion de PHD2 dans les Treg altère l'expression de nombreux gènes	69
3.2. Le phénotype inflammatoire des souris PHD2 Δ Treg est probablement dépendant de la voie HIF2 α -pSTAT1	71
3.3. Le positionnement des Treg invalidés pour PHD2 dans la rate est altéré et dépendant de HIF2 α	72
4. Partie IV: Résultats complémentaires	73
4.1. L'expression de PHD2 n'est pas nécessaire à l'effet de la prostaglandine sur la capacité suppressive des Treg <i>in vitro</i>	73
4.2. L'expression de PHD2 par les Treg est impliquée dans le remodelage de la chromatine	74
4.3. La délétion de HIF2 α mais pas de HIF1 α affecte le profil transcriptomique des Treg	76
IV. Discussion générale et perspectives	77
1. L'expression de PHD2 par les Treg affecte leur phénotype et leur capacité suppressive <i>in vivo</i> mais pas <i>in vitro</i>	77
2. Le phénotype inflammatoire des souris PHD2 Δ Treg est probablement dépendant de HIF2 α et d'un/d'autre(s) substrat(s) non-HIF	79
3. La délétion de PHD2 dans les Treg induit l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme glycolitique (HIF1 α -dépendant)	80
4. L'axe PHD2-HIF2 α serait impliqué dans la capacité migratoire et de suppression des Treg <i>in vivo</i>	80
V. Conclusion	83
VI. Matériels et méthodes	84
1. Les souris	84
2. Les solutions et milieux	84
3. Purification des cellules immunitaires	86
3.1 Isolement des cellules de la rate et des ganglions lymphatiques	86
3.2 Isolement des cellules de l'intestin	86
4. Analyse des cellules par cytométrie de flux (FACS)	86
4.1 Marquage extracellulaire	87
4.2 Marquage intracellulaire	87
4.3 Détection de la forme phosphorylée de STAT1	88
5. Purification des cellules T CD4 ⁺ naïves et des cellules Treg	88
6. Culture cellulaire	89
7. Test de suppression par les Treg <i>in vitro</i>	89
8. Test de suppression par les Treg <i>in vivo</i>	90
9. Induction d'une colite au DSS (<i>Dextran sulfate de sodium</i>)	90
10. Induction d'une entérite à l' α -CD3	90
11. Infection au Toxoplasme (<i>Toxoplasma gondii</i>)	91
12. Induction de l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE)	91

13. Extraction de l'ARN et rétrotranscription (RT).....	92
14. PCR quantitative.....	92
15. RNA-seq	93
16. ATAC-seq.....	93
17. Histologie	93
18. Marquage par immunofluorescence	94
19. Analyses statistiques	95
VII. Références bibliographiques.....	96
VIII. Articles	117