

Identification de nouveaux régulateurs moléculaires de la différenciation des monocytes humains

Les monocytes circulent dans le sang et sont recrutés dans les tissus où ils se différencient en macrophages (mo-mac) ou cellules dendritiques (mo-DC). Les mo-DC et les mo-mac participent respectivement à l'initiation et à la résolution des réponses immunitaires inflammatoires. Cependant, dans les maladies chroniques inflammatoires, les mo-DC ont des effets délétères en entretenant le cycle de l'inflammation. Ainsi, manipuler la différenciation des monocytes pourrait contribuer à restaurer l'homéostasie tissulaire. Un obstacle majeur à cette stratégie est notre connaissance limitée des mécanismes moléculaires mis en jeu. L'objectif de ma thèse est d'identifier de nouveaux régulateurs de la différenciation des monocytes en utilisant deux approches complémentaires :

(1) une approche basée sur des candidats, s'appuyant sur les travaux antérieurs du groupe. Une analyse transcriptomique comparative a révélé plusieurs facteurs de transcription différentiellement exprimés entre mo-DC et mo-mac. Dans ce projet, je me suis concentrée sur ETV3 et ETV6, des répresseurs transcriptionnels qui sont fortement exprimés dans les mo-DCs. Leur rôle dans la différenciation des monocytes était inconnu.

(2) une approche non biaisée utilisant l'analyse RNAseq de cellules uniques. Les voies moléculaires de la différenciation des monocytes humains sont fréquemment analysées à partir de cellules déjà différenciées, soit mo-DC ou mo-mac. Des informations essentielles pourraient être obtenues en analysant des stades plus précoces. Pour analyser la dynamique de la différenciation des monocytes, j'ai réalisé des expériences d'RNAseq unicellulaires à différents moments de la différenciation en utilisant un modèle in vitro. J'ai reconstruit ensuite les trajectoires de développement pour découvrir de nouvelles voies moléculaires qui régulent l'engagement des monocytes.

En utilisant un modèle in vitro de différenciation des monocytes humains, j'ai montré que les facteurs de transcription Etv3 et Etv6 contrôlent la différenciation en moDC. Une analyse transcriptomique a révélé que Etv3 et Etv6 répriment les gènes stimulés par l'interféron. J'ai également validé ces résultats in vivo en montrant que Etv6 est impliqué dans la différenciation des mo-DC lors de l'inflammation et identifié Etv6 comme cible thérapeutique dans la sclérose en plaque.

Parallèlement, j'ai analysé des monocytes en cours de différenciation en utilisant la technologie de transcriptomique en cellule unique. Par un clustering non biaisé et l'analyse d'expression différentielle des gènes, j'ai observé qu'à 3-9h de culture certains groupes de monocytes sont déjà engagés à devenir mo-DC ou mo-Mac. J'ai analysé les facteurs de transcription présentant une activité ou une expression différentielle entre les cellules engagées en mo-DC versus mo-Mac. J'ai validé que IRF1 module la différenciation en mo-mac, et ZNF366, MAFF et ETS2 en mo-DC. Ces analyses ont révélé de nouvelles voies de signalisation et facteurs de transcription impliqués dans le processus d'engagement des monocytes

Mes résultats contribuent à mieux comprendre les mécanismes moléculaires régulant le destin cellulaire des monocytes.

Mots-clés : Monocytes, différenciation, mo-mac, mo-DC, Inflammation, ETV3, ETV6

Monocytes differentiate into macrophages or dendritic cells along two alternative paths controlled by distinct transcription factors

