

Evaluation du modèle de cellules épithéliales nasales pour étudier la dysfonction épithéliale des voies respiratoires en lien avec un déficit en STAT3

Responsable : Pr Hélène SALVATOR (Hôpital FOCH, Lab VIM, équipe V2I, antenne VIM Suresnes, UMR 0892)

Lieu de Stage : Hôpital FOCH, Suresnes

Le syndrome Hyper-IgE , appelé également syndrome de Job-Buckley, est un déficit héréditaire de l'immunité. Le plus fréquemment lié à une mutation du gène codant pour le facteur de transcription STAT3, il est de transmission autosomique dominante. Il en découle un déficit en STAT3, dont le pleiotropisme explique la variété des symptômes observés au cours de ce syndrome, notamment des manifestations respiratoires. Les manifestations pulmonaires sont en effet une cause majeure de morbidité et de mortalité chez ces patients et la fréquence élevée des anomalies bronchiques et des dystrophies survenant à la suite d'infections respiratoires fait suspecter un défaut de réparation épithéliale. L'accès aux cellules épithéliales des voies respiratoires inférieures (CE) pour les études in vitro peut s'avérer difficile ; il est donc nécessaire d'adopter une approche peu invasive et sûre pour collecter et étudier la fonctionnalité des cellules épithéliales respiratoires.

Les objectifs de ce projet sont i) d'évaluer le caractère substitutif des CE nasales humaines pour étudier la fonction des CE des voies respiratoires inférieures dans le contexte d'une déficience en STAT3, ii) de décrire les dommages épithéliaux et les capacités de réparation épithéliale dans les CE nasales humaines déficientes en STAT3, iii) d'étudier la réponse des CE nasales déficientes en STAT3 à divers stimuli inflammatoires et / ou traitements immunomodulateurs.

Méthodes. Des CE nasales seront prélevées par brossage nasal sur des volontaires sains et des patients atteints du syndrome hyper IgE. Des CE bronchiques seront obtenues par dissection d'un échantillon de poumon obtenu à la suite d'une résection chirurgicale du poumon. Les CE seront cultivées à la fois en condition submergée et à l'interface air-liquide. Dans les cellules obtenues à partir de volontaires sains, la déficience en STAT3 sera reproduite en utilisant un inhibiteur pharmacologique de Stat3 ou un shRNA. Des stimuli inflammatoires (LPS, POLY I:C, IFN α , TNF α) seront ajoutés pendant la période de culture en présence ou non de ruxolitinib/stabilisateur du CFTR. Les principaux résultats évalués seront la capacité des cellules basales à restaurer un épithélium fonctionnel en cas d'insuffisance de STAT3 : épithélium pseudostratifié dans les expériences d'ALI, perméabilité (mesure de la résistance électrique trans-épithéliale, protéine de jonction ZO1), capacités de migration (tests scratch), réponse aux stimuli inflammatoires avec ou sans immunomodulateurs en termes de production de cytokines/chimiokines et d'expression de STAT1. Ces résultats seront comparés dans les CE obtenues à partir de brossages nasaux par rapport à la dissection bronchique.

L'étudiant ne sera pas en charge des prélèvements sur les patients. L'étudiant pratiquera : culture cellulaires des CE (milieu immergé, ALI), immuno-marquage et microscopie confocale (plateforme faculté des Sciences de la Vie Montigny le Bretonneux), dosage ELISA, biomoléculaire qPCR.