

Ecole Doctorale

*Biologie - Santé**Laboratoire Lymphocytes B et Autoimmunité***AVIS DE SOUTENANCE DE THESE****Le vendredi 17 janvier 2020 à 13h30**

au Pôle Numérique Brest Bouguen, amphithéâtre numérique, 6 rue du Bouguen, Brest

Monsieur GRASSEAU ALEXIS

soutiendra une thèse de doctorat sur le sujet suivant :

" Signature moléculaire des lymphocytes B régulateurs humains en physiologie et en pathologie ".

Le jury sera ainsi composé :

- **MME BONIFACE KATIA, Maître de conf univ - Praticien hosp**
Université de Bordeaux - BORDEAUX
- **MME HILLION SOPHIE, Maître de conférences**
Univ. de Bretagne Occidentale - BREST
- **M. LUCAS BRUNO, Directeur de Recherche**
Institut Cochin - PARIS 14EME
- **M. PERS JACQUES-OLIVIER, Professeur des univ - Praticien hosp**
Univ. de Bretagne Occidentale - BREST
- **MME PORTEU FRANCOISE, Directrice de Recherche**
Institut Gustave Roussy - VILLEJUIF
- **MME VOISSET CECILE, Chargée de Recherche**
Univ. de Bretagne Occidentale - BREST

A BREST, le 09 janvier 2020

Le Président de l'Université de
Bretagne Occidentale,**M. GALLOU****Présidence**3, rue des Archives
CS 93837
29238 Brest cedex 3 www.univ-brest.fr

Titre : Signature moléculaire des lymphocytes B régulateurs humains en physiologie et pathologie

Mots clés : Signature moléculaire, lymphocytes B régulateurs, c-MAF, plasmablaste, plasmocyte

Résumé : Les lymphocytes B régulateurs (LB_{reg}) chez l'Homme correspondent à des sous-populations de LB avec une grande variété de phénotypes (Mauri et al., 2015) et de mécanismes (Floudas et al., 2016). Cette diversité rend leur caractérisation et leur suivi difficile. L'objectif de ce travail était donc d'identifier et d'étudier une signature moléculaire des LB humains ayant une fonction régulatrice.

Nous avons développé un modèle *in vitro* de polarisation des LB en LB_{reg} et en LB avec une fonction inflammatoire (LB_{inf}). Par la suite, un RNA-seq de ces 2 types de LB a été effectué et les gènes différentiellement exprimés (DEG) entre les LB_{reg} et LB_{inf} ont été identifiés. Enfin, une méta-analyse de cette signature a été faite pour définir les potentiels éléments régulateurs de cette fonction. Puis, des études *in vitro* ont été faites pour valider ces observations.

À partir de l'analyse RNA-seq, 225 DEG ont été identifiés entre les LB_{reg} et les LB_{inf}. Parmi eux, le facteur de transcription (FT) c-MAF est le FT le plus augmenté dans les LB_{reg} (FC = 16,2). De plus, des comparaisons avec des CHIP-seq publiques de c-MAF, confirment un enrichissement significatif des cibles de c-MAF dans la signature des LB_{reg}. Parmi eux, le gène *IL10* est présent.

Par la suite, les analyses *in vitro* ont permis de montrer que l'expression d'IL10 est restreinte aux LB c-MAF^{hi}. Ceux-ci ont également une forte expression de CD27, CD38 et BLIMP1, suggérant ainsi un stade de différenciation de type plasmablaste (PB) / plasmocyte (PC). Les analyses phénotypiques et la comparaison de la signature des LB_{reg} avec une signature des PB humains permettent également d'associer les LB_{reg} à des PB/PC. Enfin, un siRNA *MAF* montre une perturbation de la balance BLIMP1/T-BET, avec une diminution de BLIMP1 et une augmentation de T-BET.

Ces résultats suggèrent que le FT c-MAF pourrait être essentiel à la régulation issue des LB, comme observé dans d'autres types de cellules immunitaires. En effet, c-MAF est un FT important pour la régulation *via* les LT_{reg} (Xu et al., 2018) et des macrophage M2 (Kang et al., 2017). De plus, le lien entre c-MAF et BLIMP1, ainsi que les résultats du siRNA *MAF*, suggèrent un potentiel rôle de c-MAF dans la différenciation des LB. En effet, BLIMP1 et T-BET sont respectivement associés aux PB/PC et aux LB mémoires (Shaffer et al., 2002 ; Tellier et al., 2016; Cancro et al., 2017; Kenderes et al., 2018).

Titre : A molecular signature of human regulatory B cells in health and disease

Keywords : Molecular signature, regulatory B cells, c-MAF, plasmablast, plasma cell

Abstract : Regulatory B cells (B_{reg}) in human are included in a large group of B-cell subsets encompassing a high heterogeneity of phenotypes (Mauri et al., 2015) and suppressor mechanisms (Floudas et al., 2016). This variability leads to a high difficulty to characterize and monitor human B_{reg}. One aim of our work was to establish and study a molecular signature of B cells with regulatory properties.

We developed an *in vitro* model to polarize peripheral B cells in B_{reg} and inflammatory B-cell (B_{inf}). Then, we performed RNA-sequencing on these two functional subsets. A meta-analysis on differentially expressed genes (DEG) has led to the definition of critical factors involved in regulatory function. *In vitro* studies was used for data validation.

From the RNA-seq analysis, we obtained 225 DEG between B_{reg} and B_{inf}. Among them, the c-MAF transcription factor (TF) was the most upregulated TF (FC = 16.2). Also, comparisons with public c-MAF CHIP-seq data confirmed a significant enrichment of c-MAF target-genes in B_{reg} signature. We thus established that c-MAF could be induced in human blood B cells after TLR and BCR stimulation. Besides, we observed that IL-10 production

was restricted to c-MAF^{hi} expressing B cells together with the expression of CD27, CD38, and BLIMP1, suggesting a differentiation state close to plasmablast (PB) / plasma cells (PC). Phenotype analysis and comparison of homemade human PB signature with B_{reg} signature also linked B_{reg} with PB state. Moreover, siRNA *MAF* impairs BLIMP1/T-BET balance in B cells with a decrease and increase of BLIMP1 and T-BET respectively.

These results suggest that the c-MAF TF could be an essential factor in the regulatory function of B cells, as observed in other immune cells. Indeed, c-MAF is a significant TF involved in several regulatory immune cells, such as regulatory T cells (Xu et al., 2018) or M2 macrophages (Kang et al., 2017). Moreover, the link between c-MAF and BLIMP1, as well as siRNA *MAF* results, suggest a potential role of c-MAF in B cell fate. Indeed, BLIMP1 and T-BET are associated with PB/PC and memory B cells respectively (Shaffer et al., 2002 ; Tellier et al., 2016; Cancro 2017; Kenderes et al., 2018).