







## Analyse de l'émergence des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> spécifiques d'un antigène hépatocytaire : les prémices de l'hépatite auto-immune ?

Anaïs Cardon 1,3, Jean-Paul Judor 1,3, Arnaud Nicot 2,3, Sophie Conchon 2,3 et Amédée Renand 2,3

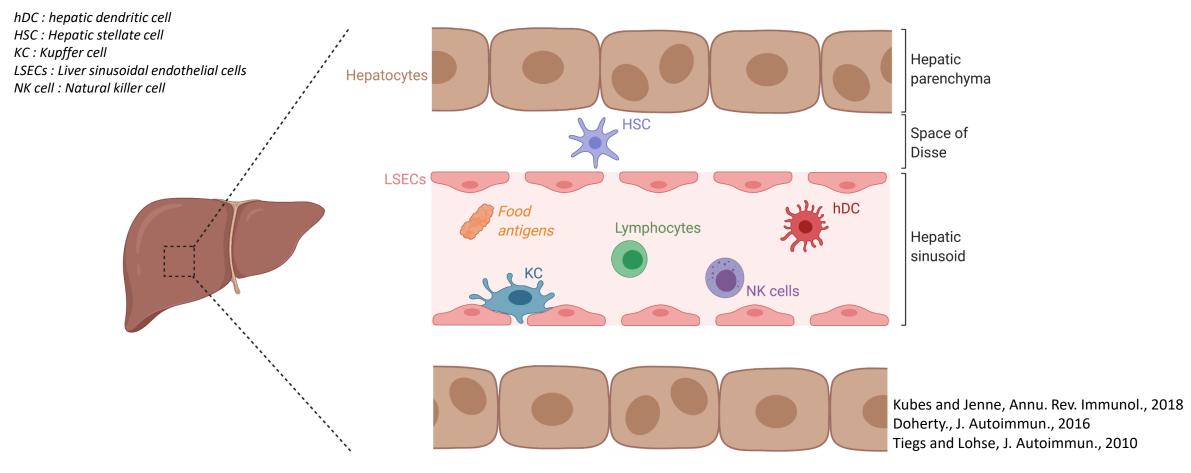
<sup>1</sup> Université de Nantes ; <sup>2</sup> Inserm ; <sup>3</sup> Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie, UMR 1064, ITUN, Nantes, France

Journée Recherche FILFOIE

14 octobre 2021

## Le foie, un organe aux propriétés tolérogènes particulières

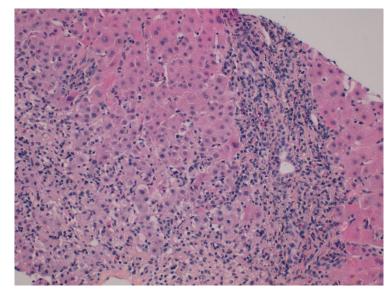
#### La tolérance hépatique



## L'hépatite auto-immune (HAI)

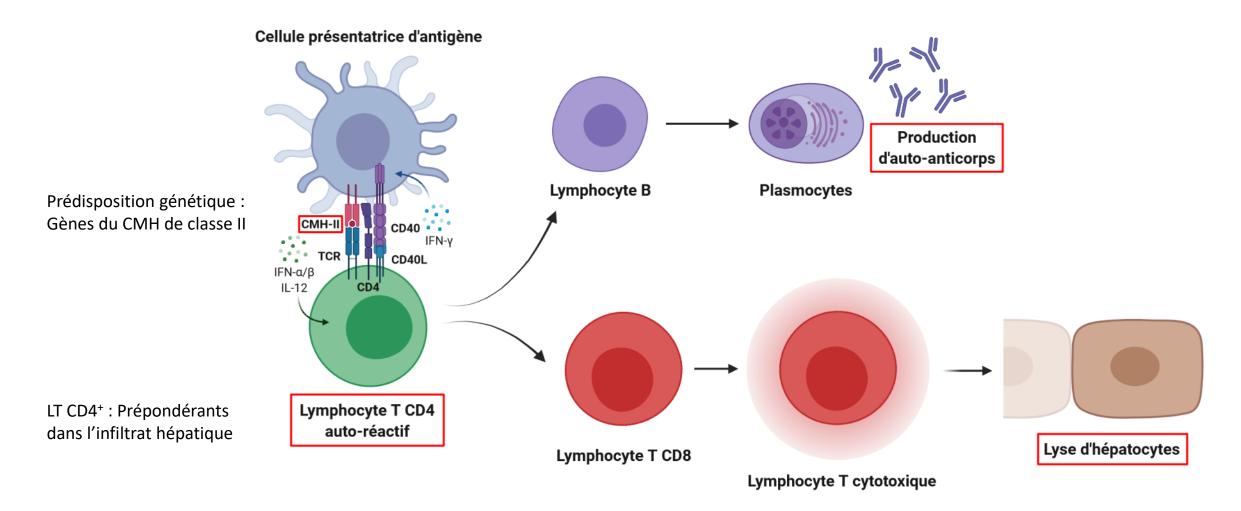
#### Maladie auto-immune

- Destruction du parenchyme hépatique par le système immunitaire
- > Rare (prévalence : 15/100 000 en Europe)
- Caractérisée par :
  - une infiltration lymphocytaire hépatique (LT CD4+, LT CD8+, plasmocytes)
  - une importante destruction hépatocytaire ⇒ fibrose chronique
  - une hypergammaglobulinémie (fort taux d'IgG)
  - des auto-anticorps (anti-LKM-1, anti-LC-1, anti-SLA, ANA...)
- Traitement par immunosuppresseurs : predniso(lo)ne +/- azathioprine
- Étiologie peu/mal caractérisée



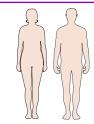
Hépatite d'interface

## HAI et lymphocytes T CD4<sup>+</sup>



#### HAI et LT CD4<sup>+</sup> : chez l'Homme

Auto-anticorps	Antigène cible	
Anti-SLA	Protéine SepSecs	
Anti-LKM-1	CYP2D6	
Anti-LC-1	FTCD	

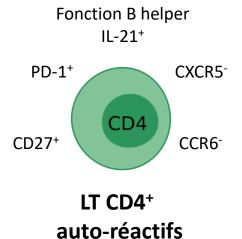


#### **JOURNAL** OF HEPATOLOGY

#### Integrative molecular profiling of autoreactive CD4 T cells in autoimmune hepatitis

Amédée Renand<sup>1</sup>, Iñaki Cervera-Marzal<sup>2,†</sup>, Laurine Gil<sup>2,†</sup>, Chuang Dong<sup>2,†</sup>, Alexandra Garcia<sup>1</sup>, Erwan Kervagoret<sup>1</sup>, Hélène Aublé<sup>3</sup>, Sarah Habes<sup>4</sup>, Caroline Chevalier<sup>3</sup>, Fabienne Vavasseur<sup>3</sup>, Béatrice Clémenceau<sup>5</sup>, Anaïs Cardon<sup>1</sup>, Jean-Paul Judor<sup>1</sup>, Jean-François Mosnier<sup>1,6</sup>, Florence Tanné<sup>7</sup>, David-Axel Laplaud<sup>1,8</sup>, Sophie Brouard<sup>1</sup>, Jérôme Gournay<sup>4,9</sup>, Pierre Milpied<sup>2,‡</sup>, Sophie Conchon 1,\*,1

Volume 73, Issue 6, December 2020, Pages 1379-1390 https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.05.053



#### HAI et LT CD4<sup>+</sup>: dans des modèles murins

#### HEPATOLOGY



A murine model of type 2 autoimmune hepatitis: Xenoimmunization with human antigens

Pascal Lapierre, Idriss Djilali-Saiah, Susana Vitozzi, Fernando Alvarez

First published: 25 March 2004 | https://doi.org/10.1002/hep.20109

Genetic predisposition and environmental danger signals initiate chronic autoimmune hepatitis driven by CD4<sup>+</sup> T cells

Matthias Hardtke-Wolenski, Katja Fischer, Fatih Noyan, Jerome Schlue, Christine S. Falk, Maike Stahlhut, Norman Woller, Florian Kuehnel, Richard Taubert, Michael P. Manns, Elmar Jaeckel

First published: 08 March 2013 | https://doi.org/10.1002/hep.26380



Article | May 12 2008

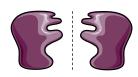
Breaking tolerance to the natural human liver autoantigen cytochrome P450 2D6 by virus infection

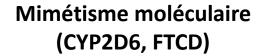
Martin Holdener, Edith Hintermann, Monika Bayer, Antje Rhode, Evelyn Rodrigo, Gudrun Hintereder, Eric F. Johnson, Frank J. Gonzalez, Josef Pfeilschifter, Michael P. Manns, Matthias von G. Herrath, Urs Christen

J Exp Med (2008) 205 (6): 1409-1422. https://doi.org/10.1084/jem.20071859



Auto-anticorps	Antigène cible	
Anti-SLA	Protéine SepSecs	
Anti-LKM-1	CYP2D6	
Anti-LC-1	FTCD	





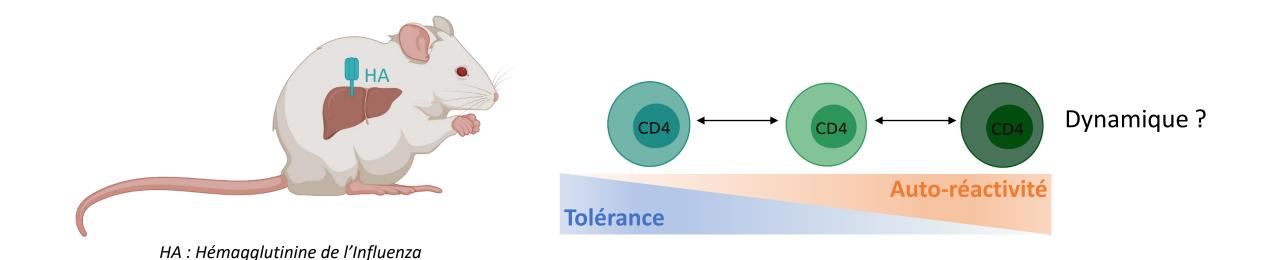


LT CD4<sup>+</sup> (Th1, Th17)



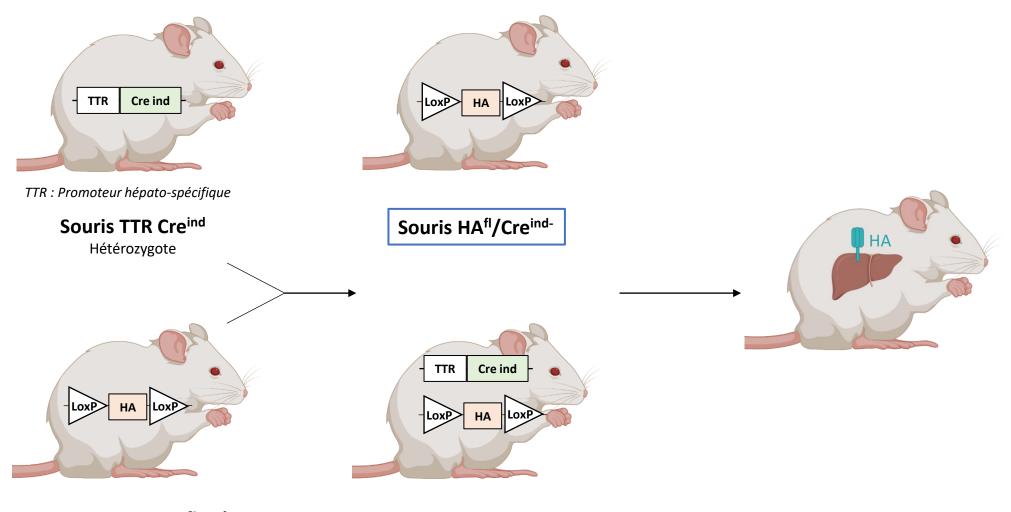
## Analyse des réponses immunes dirigées contre un antigène hépatique

# Développement de modèles murins permettant l'analyse des réponses immunes dirigées contre un antigène hépatique modèle : l'hémagglutinine



(glycoprotéine)

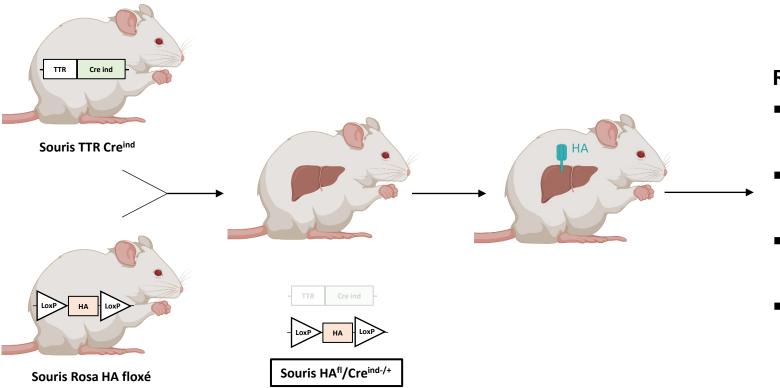
## Expression hépatique de l'hémagglutinine (HA)



Souris Rosa HA floxé Homozygote

Souris HAfl/Creind+

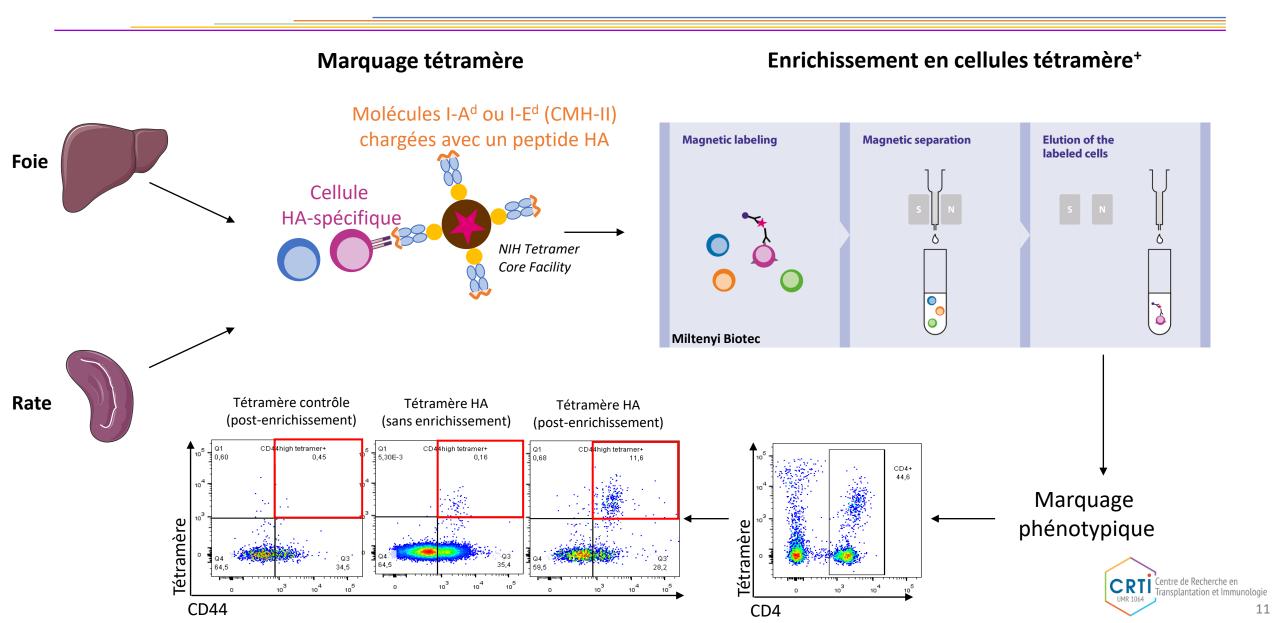
## Réponses immunes HA-spécifiques



#### Réponses immunes spécifiques :

- Génération de LT CD4<sup>+</sup> HA-spécifiques (marquage tétramère, FACS)
- Production d'anticorps anti-HA (test ELISA)
- Expression hépatique de HA (RT-qPCR, Western blot)
- Fonction hépatique (dosage ASAT/ALAT) et histologie

## Détection des LT CD4<sup>+</sup> HA-spécifiques



Peut-on induire une réponse adaptative contre un antigène exprimé dans le foie ?

## Peut-on induire une réponse adaptative contre un antigène exprimé dans le foie ?

## Expression hépatique de l'antigène

#### **Tolérance**

```
Keeler et al., Mol. Ther., 2018;
Le Guen et al., J. Hepatol., 2017;
Nienhuis et al., Mol. Ther., 2017;
Akbarpour et al., Sci. Transl. Med., 2015;
Nathwani et al. N. Engl. J. Med., 2014;
Ren et al., J. Gene Med., 2013
```

## Peut-on induire une réponse adaptative contre un antigène exprimé dans le foie?

Expression hépatique de l'antigène

#### **Tolérance**

Keeler et al., Mol. Ther., 2018; Le Guen et al., J. Hepatol., 2017; Nienhuis et al., Mol. Ther., 2017; Akbarpour et al., Sci. Transl. Med., 2015; Nathwani et al. N. Engl. J. Med., 2014; Ren et al., J. Gene Med., 2013

Expression hépatique de l'antigène

+ Inflammation hépatique

Réponse adaptative

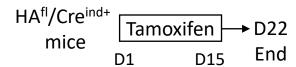
Hypothèse

## Expression hépatique de HA en condition non-inflammatoire

Tamoxifène

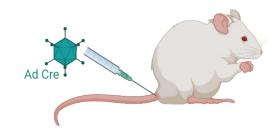


#### **☐** Tamoxifène

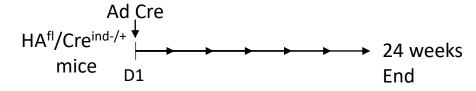


## Expression hépatique de HA en condition inflammatoire

Ad Cre



#### ☐ Ad Cre





## ☐ Tamoxifène : expression hépatique de HA sans inflammation hépatique

$$\begin{array}{c|c}
\text{HA}^{\text{fl}}/\text{Cre}^{\text{ind+}} \\
\text{mice} \\
\text{D1} & \text{D15}
\end{array}$$
End

☐ Ad Cre : expression hépatique de HA et inflammation hépatique

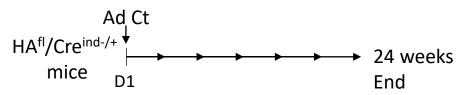
#### **Contrôles:**

Contrôles

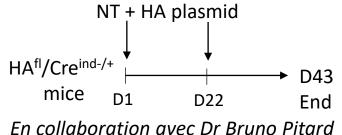
négatifs

☐ Naïves : pas d'expression de HA, ni inflammation hépatique

☐ Ad contrôle : inflammation hépatique seulement

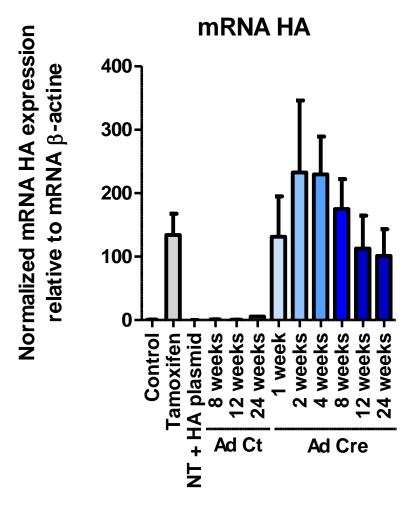


■ Nanotaxi® + Plasmide HA : réponse anti-HA indépendante du foie

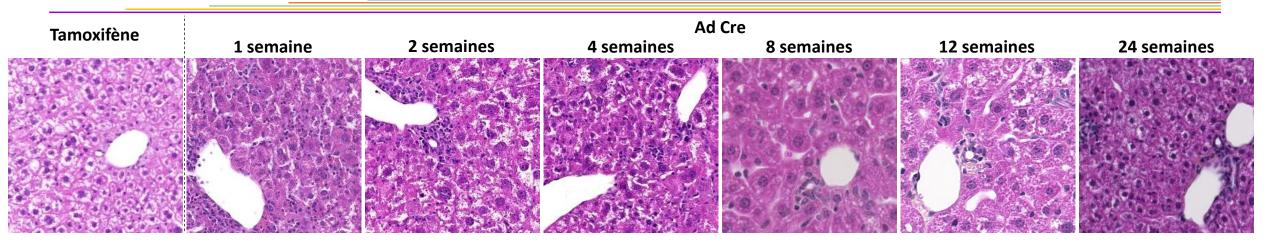


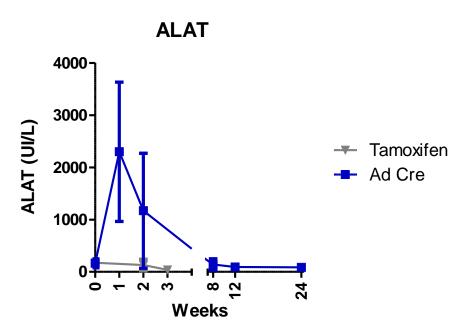
Contrôle positif

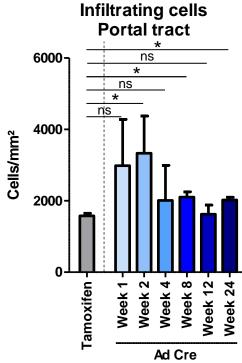
## Le tamoxifène et l'Ad Cre induisent l'expression hépatique de HA



## L'Ad Cre induit une hépatite transitoire

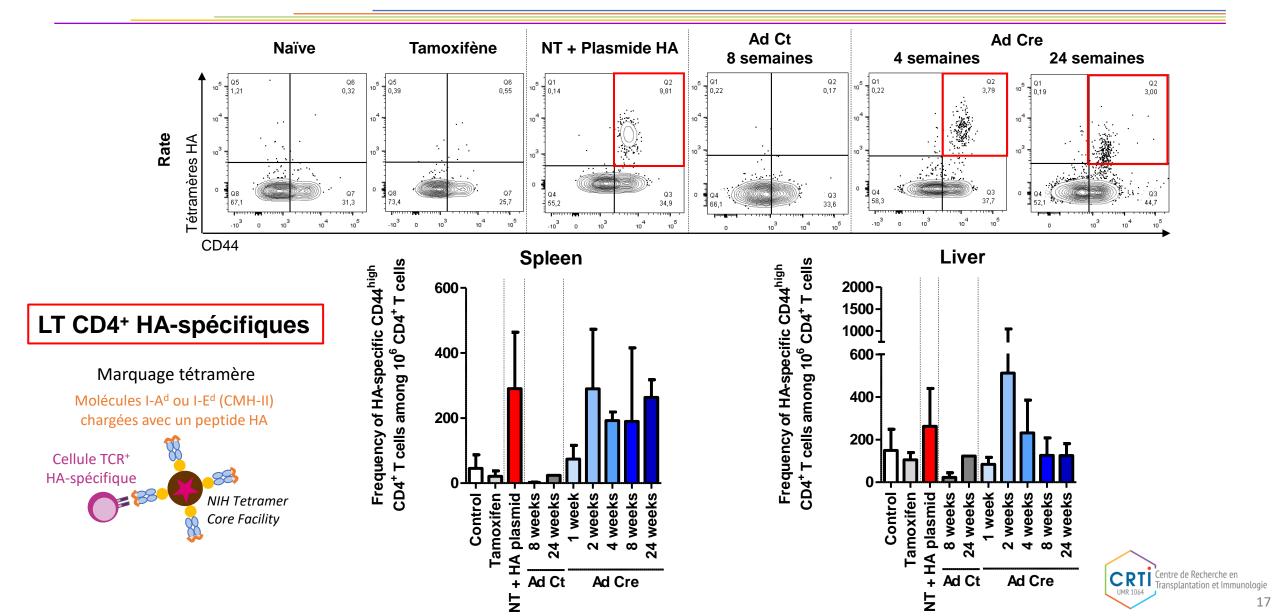




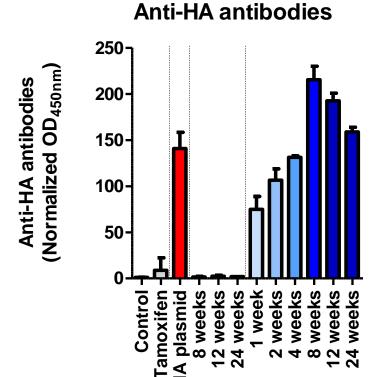




## L'Ad Cre induit des LT CD4<sup>+</sup> HA-spécifiques persistants



## L'Ad Cre induit des anticorps anti-HA persistants

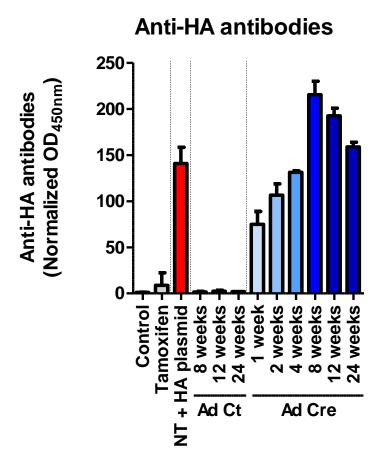


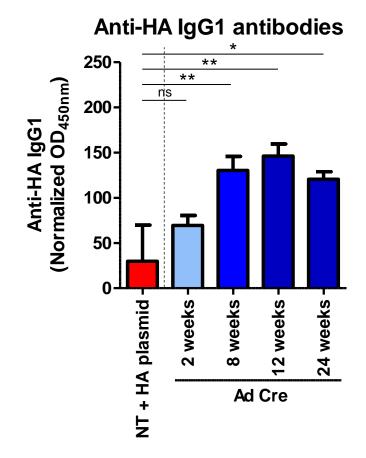
Ad Ct

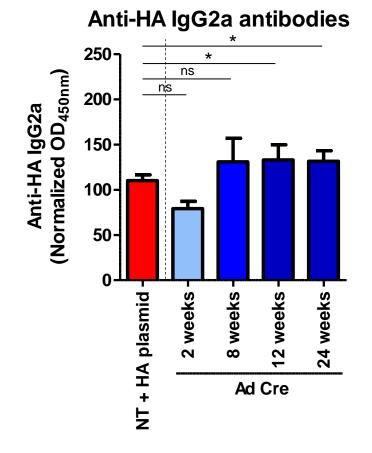
F

Ad Cre

## L'Ad Cre induit plus d'IgG1 anti-HA







## Conclusion

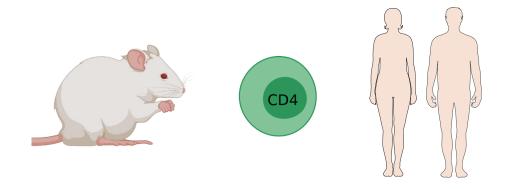
	Tamoxifène	NT + Plasmide HA	Ad Cre
Expression hépatique de HA	$\checkmark$	-	$\checkmark$
LT CD4 <sup>+</sup> HA-spécifiques	-	<b>✓</b>	$\checkmark$
Anticorps anti-HA	-	√ lgG2	√ lgG1, lgG2

Induction d'une réponse adaptative contre un antigène hépatique

## Conclusion

	Tamoxifène	NT + Plasmide HA	Ad Cre
Expression hépatique de HA	$\checkmark$	-	$\checkmark$
LT CD4 <sup>+</sup> HA-spécifiques	-	<b>✓</b>	$\checkmark$
Anticorps anti-HA	-	√ lgG2	√ lgG1, lgG2

## Induction d'une réponse adaptative contre un antigène hépatique

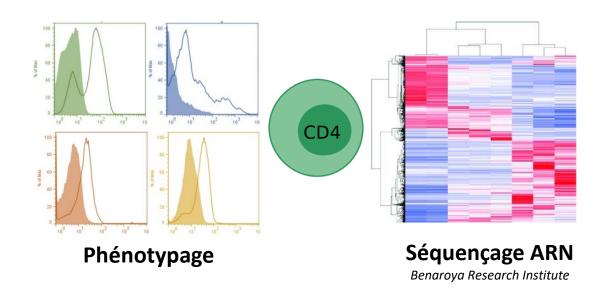


## Perspectives

	Tamoxifène	NT + Plasmide HA	Ad Cre
Expression hépatique de HA	$\checkmark$	-	$\checkmark$
LT CD4 <sup>+</sup> HA-spécifiques	-	<b>✓</b>	$\checkmark$
Anticorps anti-HA	-	√ lgG2	√ lgG1, lgG2

### **Perspectives:**

Analyses phénotypique et transcriptomique (bulk RNAseq) des LT CD4<sup>+</sup> HA-spécifiques



#### Remerciements



Toute l'équipe **UTE IRS-UN** 



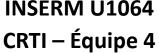




In-Cell-Art **Bruno Pitard** 







Sophie Conchon Amédée Renand Jean-Paul Judor



Stéphanie Blandin

Pierre-Jean Gavlovsky



