



HAL
open science

Nouvelles approches thérapeutiques dans l'uvéite autoimmune expérimentale

Narjisse Myriam Feraoun

► **To cite this version:**

Narjisse Myriam Feraoun. Nouvelles approches thérapeutiques dans l'uvéite autoimmune expérimentale. Sciences du Vivant [q-bio]. 2011. hal-01733480

HAL Id: hal-01733480

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733480v1>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

Pour obtenir le grade de

Docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Narjisse Myriam FERAOUN

le 5 septembre 2011

Nouvelles Approches Thérapeutiques dans l'Uvéite Autoimmune Expérimentale

Examineurs de la thèse

J.P. Berrod	Professeur	Président
A. Brézin	Professeur	Directeur
F. Batteux	Professeur	Directeur
D. Wahl	Professeur	Juge
T. Civit	Professeur	Juge
D. Monnet	Professeur	Juge

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice Doyen Mission « sillon lorrain » : Professeur Annick BARBAUD

Vice Doyen Mission « Campus » : Professeur Marie-Christine BÉNÉ

Vice Doyen Mission « Finances » : Professeur Marc BRAUN

Vice Doyen Mission « Recherche » : Professeur Jean-Louis GUÉANT

Assesseurs :

- Pédagogie :	Professeur Karine ANGIOÏ-DUPREZ
- 1 ^{er} Cycle :	Professeur Bernard FOLIGUET
- « Première année commune aux études de santé (PACES) et universitarisation études para-médicales »	M. Christophe NÉMOS
- 2 ^{ème} Cycle :	Professeur Marc DEBOUVERIE
- 3 ^{ème} Cycle :	
« DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI
« DES Spécialité Médecine Générale	Professeur Francis RAPHAËL
- Filières professionnalisées :	M. Walter BLONDEL
- Formation Continue :	Professeur Hervé VESPIGNANI
- Commission de Prospective :	Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT
- Recherche :	Professeur Didier MAINARD
- Développement Professionnel Continu :	Professeur Jean-Dominique DE KORWIN

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Patrick NETTER

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre ALEXANDRE – Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain BERTRAND - Pierre BEY - Jacques BORRELLY
Michel BOULANGE - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT Jean-Pierre CRANCE -
Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS
Michel DUC - Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH
Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ
Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT - Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT
Pierre LANDES - Alain LARCAN - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN
Bernard LEGRAS - Michel MANCIAUX - Jean-Pierre MALLIÉ – Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU
Denise MONERET-VAUTRIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN Gilbert PERCEBOIS
Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU – Jacques POUREL Jean PREVOT
Antoine RASPILLER - Michel RENARD - Jacques ROLAND - René-Jean ROYER - Paul SADOUL - Daniel SCHMITT
Michel SCHWEITZER - Jean SOMMELET - Danièle SOMMELET - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT Augusta TREHEUX
Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT - Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel WAYOFF
Michel WEBER

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUÉL – Professeur Christian BEYAERT

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Professeur Ali DALLOUL

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIIEWSKI

3^{ème} sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2^{ème} sous-section : (Médecine et santé au travail)

Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES – Professeur Gérard AUDIBERT

2^{ème} sous-section : (Réanimation médicale ; médecine d'urgence)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT

Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

**49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE,
HANDICAP et RÉÉDUCATION**

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI
Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE
Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD

Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP – Professeur Gilles DAUTEL

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL

Professeur Christian de CHILLOU

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT - Professeur Jean-Pierre CARTEAUX

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Professeur Marc-André BIGARD - Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

2^{ème} sous-section : (Chirurgie digestive)

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Christine PERRET-GUILLAUME

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER
Professeur François FEILLET - Professeur Cyril SCHWEITZER

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI – Professeur Cécile PARIETTI-WINKLER

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeur Etienne SIMON

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT – Docteur Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Docteur Edouard BARRAT - Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Docteur Aude BRESSENOT

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Docteur Damien MANDRY

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

Docteur Shyue-Fang BATTAGLIA

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Docteur Véronique DECOT-MAILLERET

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Docteur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteur Francine MORY – Docteur Véronique VENARD

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Madame Marie MACHOUART

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteur Frédérique CLAUDOT

3^{ème} sous-section (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

4^{ère} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Docteur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique)*)

Docteur Lina BOLOTINE

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : (*Génétiq*ue)

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteur Céline BONNET

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50^{ème} Section : RHUMATOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Rhumatologie*)

Docteur Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Docteur Anne-Claire BURSZTEJN

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

3^{ème} sous-section :

Docteur Olivier MOREL

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE

Monsieur Vincent LHUILLIER

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-François COLLIN

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Mr Nick RAMALANJAONA

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY
Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA
Madame Nathalie MERCIER

66^{ème} section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE

Madame Nadine MUSSE

=====

PROFESSEURS ASSOCIÉS

Médecine Générale

Professeur associé Alain AUBREGE
Professeur associé Francis RAPHAEL

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Jean-Marc BOIVIN
Docteur Jean-Louis ADAM
Docteur Elisabeth STEYER
Docteur Paolo DI PATRIZIO
Docteur Sophie SIEGRIST

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Jean-Marie ANDRÉ - Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Pierre BEY - Professeur Michel BOULANGÉ
Professeur Jean-Pierre CRANCE – Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ
Professeur Simone GILGENKRANTZ - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Alain LARCAN
Professeur Denise MONERET-VAUTRIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD
Professeur Michel PIERSON - Professeur Jacques POUREL - Professeur Jacques ROLAND – Professeur Michel STRICKER
Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Paul VERT - Professeur Colette VIDAILHET
Professeur Michel VIDAILHET

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972) <i>Université de Stanford, Californie (U.S.A)</i>	Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989) <i>Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)</i>
Professeur Paul MICHIELSEN (1979) <i>Université Catholique, Louvain (Belgique)</i>	Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996) <i>Université de Pennsylvanie (U.S.A)</i>
Professeur Charles A. BERRY (1982) <i>Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)</i>	Professeur Mashaki KASHIWARA (1996) <i>Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)</i>
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982) <i>Brown University, Providence (U.S.A)</i>	Professeur Ralph GRÄSBECK (1996) <i>Université d'Helsinki (FINLANDE)</i>
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982) <i>Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)</i>	Professeur James STEICHEN (1997) <i>Université d'Indianapolis (U.S.A)</i>
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982) <i>Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)</i>	Professeur Duong Quang TRUNG (1997) <i>Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)</i>
Harry J. BUNCKE (1989) <i>Université de Californie, San Francisco (U.S.A)</i>	
Professeur Daniel G. BICHET (2001) <i>Université de Montréal (Canada)</i>	Professeur Marc LEVENSTON (2005) <i>Institute of Technology, Atlanta (USA)</i>
Professeur Brian BURCHELL (2007) <i>Université de Dundee (Royaume Uni)</i>	

À notre Maître et Président du jury de thèse,

Monsieur le Professeur Jean Paul Berrod,
Professeur d'Ophtalmologie et chef du service d'Ophtalmologie de l'Hôpital Central à
Nancy,

Vous avez bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse.
Nous tenons à vous remercier profondément pour votre enseignement ainsi que pour votre
disponibilité, vos encouragements et vos conseils qui ont été une grande source d'inspira-
tion au cours de ces années d'internat. Nous vous exprimons ici toute notre gratitude ainsi
que notre respect le plus sincère.

À nos directeurs de thèse,

Monsieur le Professeur Frédéric Batteux,

Professeur d'Immunologie Biologique,

Directeur du laboratoire d'Immunologie Biologique de l'Hôpital Cochin,

Vous nous avez proposé ce sujet innovant et vous avez accepté de diriger ce travail.

Travailler sur ce projet au sein de votre équipe chaleureuse a été une expérience très enrichissante. Votre écoute, vos conseils et vos remarques nous ont permis de mener à bien cette thèse.

Veillez accepter l'expression de nos plus sincères remerciements et de notre profond respect.

Monsieur le Professeur Antoine Brezin,

Professeur d'Ophtalmologie,

Chef du service d'Ophtalmologie de l'Hôpital Cochin,

Vous nous avez proposé de réaliser ce travail de recherche en complément d'un stage clinique dans votre service. Vous nous avez encouragée dans notre travail, depuis sa conception jusqu'à la direction de cette thèse. Votre écoute et vos encouragements nous ont guidée pendant ces mois de travail et l'enseignement que vous nous avez prodigué nous a été extrêmement précieux.

Nous ne saurions vous montrer suffisamment notre reconnaissance et notre sincère respect.

À Monsieur le Professeur Dominique Monnet

Professeur d'Ophtalmologie,

Vous nous avez encouragée à chaque étape de ce travail et fait profiter de votre grande expérience et de votre pédagogie. Nous vous remercions particulièrement pour vos conseils, votre écoute et votre gentillesse.

Nous vous exprimons notre sincère reconnaissance et notre profond respect.

À Monsieur le Professeur Thierry Civit

Vous avez accompagné nos premiers pas en chirurgie et votre sens clinique et votre maîtrise chirurgicale ont été une source d'inspiration pour la suite de nos études.

Vous nous faites l'honneur de juger notre travail. Veuillez accepter l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

À Monsieur le Professeur Wahl

Vous nous faites l'honneur de juger notre travail et de nous faire profiter de votre grande expérience dans ce domaine. Nous tenons à vous exprimer notre sincère reconnaissance et notre profond respect.

À ma famille,

À mes parents, mon frère Malik, mes soeurs Farisa, Nadia et Nasrine, et mes beaux-frères Eric et Cédric, merci de m'avoir entourée de votre affection et de votre soutien tout au long de mes années d'étude. Vos conversations enrichissantes, votre amour et vos encouragements m'ont portée pendant toutes ces années. Je remercie particulièrement ma soeur Nasrine pour son soutien incommensurable, ses relectures attentives du manuscrit, et ses suggestions.

À mon mari, Nicolas dont l'amour et le soutien m'ont été si précieux pendant tout l'accomplissement de ce travail. Ses conseils, ses encouragements et sa tendresse m'ont permis de passer cette épreuve et me donnent la joie d'espérer pouvoir passer avec lui les suivantes que pourra m'apporter la vie.

À mes neveux et nièces adorés, Allan, Inès, Emma, Lyna et Adam, vous êtes mes petits rayons de soleils.

Je remercie les membres du laboratoire d'Immunologie Biologique de l'Hôpital Cochin, en particulier Aurélie Hesbert qui a travaillé avec moi sur ce projet ainsi que Carole Nicco et Christiane Chéreau pour leur disponibilité, et leur aide précieuse.

Je remercie vivement le Docteur Jean Baptiste Daudin pour ses nombreux conseils et ses encouragements.

Enfin je remercie tous les autres membres du laboratoire, en particulier Sandrine, Wiola, Vincent, Niloufar, Isabelle, pour la bonne humeur et l'entraide qui ont participé à rendre cette expérience aussi belle humainement que passionnante scientifiquement.

Je remercie mes maîtres et confrères qui ont guidé et accompagné mes pas en ophtalmologie, en particulier le professeur Frank May qui fut le premier à m'enseigner l'ophtalmologie en me faisant profiter de ses immenses connaissances, et le professeur Jean Luc George qui a veillé sur notre formation avec une grande pédagogie. Je remercie également tous ceux qui ont participé à ma formation, en particulier le docteur Jean Marc Perone, le docteur Isabelle Hubert, le docteur Marie Christine Bazard, le docteur Pierre Jean Bertaux, le docteur Pascale Perriguet, le docteur Rym Ouled Moussa, le docteur Gilles Mery, le docteur Malicia Casillas, le docteur Toufik Maalouf, le docteur Catherine Boureau, le docteur Emmanuelle Delair, le docteur Lamine Haddad, le docteur Leroux Les Jardins et bien d'autres. Je remercie aussi tous mes collègues internes qui m'ont accompagnée lors de la longue traversée de cette phase délicate "d'apprenti-médecin".

Enfin, je remercie mes chères amies Susanne, Claire et Eléonore pour leur amitié chaleureuse et leur soutien depuis toutes ces années.

SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

Table des matières

1	Introduction	27
2	Matériel et Méthodes	35
2.1	Animaux	35
2.2	Immunisation à l'aide d'un antigène rétinien	35
2.3	Induction de l'uvéite autoimmune expérimentale (UAE) chez les souris C57BL/6 par le peptide p1-20 de l'IRBP	36
2.4	Administration des traitements	36
2.5	Évaluation clinique de l'uvéite autoimmune expérimentale	37
2.6	Étude de l'hypersensibilité retardée par test cutané	40
2.7	Examens histopathologiques	40
2.8	Étude de la réponse proliférative spécifique d'antigène	41
2.9	Étude de la production de cytokines spécifiques d'antigène	42
2.10	Dosage sérique des anticorps	42
2.11	Analyse de la distribution et des caractéristiques phénotypiques des splé- nocytes par cytométrie en flux	43
2.12	Analyses en immunohistochimie du récepteur du VEGF de type 2 phos- phorylé	43
2.13	Dosage sérique du VEGF	44
2.14	Dosage sérique des nitrites	44
2.15	Analyses statistiques	44
3	Résultats	45
3.1	Résultats cliniques	45
3.2	Résultats histologiques	49
3.3	Évaluation de la réponse lymphocytaire T spécifique de l'IRBP	51
3.3.1	Mesure de l'hypersensibilité retardée <i>in vivo</i>	51

3.3.2	Réponse lymphocytaire T <i>in vitro</i>	52
3.3.2.1	Réponse proliférative des splénocytes en présence d'IRBP	52
3.3.2.2	Réponse cytokinique des splénocytes	52
3.3.3	Analyse des caractéristiques phénotypiques des lymphocytes T par cytométrie en flux	54
3.4	Réponse humorale	54
3.5	Analyse du mécanisme d'action du sunitinib	56
3.5.1	Analyse en immunohistochimie du récepteur du VEGF phospho- rylé de type 2	57
3.5.2	Dosage sérique du VEGF	57
3.5.3	Dosage sérique des nitrites	58
4	Discussion	59
5	Conclusion	65
	Bibliographie	67

Chapitre 1

Introduction

Privilège immunitaire et inflammation intraoculaire

L'uvéite autoimmune est une maladie sévère et potentiellement cécitante. Elle correspond à une atteinte inflammatoire de l'uvée qui comprend la choroïde, l'iris et le corps ciliaire. On estime qu'elle atteint plus de 100.000 cas par an en France et serait responsable de 10% de causes de cécité acquises de l'adulte dans les pays industrialisés [1]. Ses causes peuvent être infectieuses ou inflammatoires et parmi ces dernières, on distingue les atteintes inflammatoires systémiques (comme la sarcoïdose, les uvéites associées aux spondylarthropathies, et la maladie de Behçet) des atteintes purement ophtalmologiques (comme la maladie de Birdshot et l'ophtalmie sympathique). L'étiologie de ces maladies reste le plus souvent inconnue, mais leur association fréquente avec certains gènes HLA a fait évoquer une origine autoimmune contre un ou plusieurs antigènes rétiens, avec une probable prédisposition génétique [1, 2].

L'oeil, tout comme le système nerveux central, est un organe immunologiquement à part qui présente un certain nombre de barrières protectrices contre l'inflammation. En effet dans cet organe fragile, une inflammation pourrait causer une perte fonctionnelle visuelle rapide, et l'évolution a privilégié cet organe en freinant de diverses manières les mécanismes immunologiques qui pourraient être mis en jeu. Ce privilège immunitaire de l'oeil comporte ainsi :

- l'absence de drainage lymphatique,

- la faible expression des CMH de type II susceptibles d’activer le système immunitaire,
- la barrière hémato-rétinienne, qui séquestre les antigènes oculaires loin des cellules immunitaires circulantes.
- le phénomène ACAID (Anterior chamber associated immune deviation) qui conduit, en présence d’un antigène étranger, à la production de molécules anti inflammatoires, ainsi qu’à la formation dans la rate de cellules T spécifiques permettant la tolérance de cet antigène.
- L’expression constitutive de protéine Fas ligand sur les membranes qui protège l’oeil contre une activation des cellules immunitaires en provoquant une apoptose à leur contact.
- Enfin, les lymphocytes T qui pourraient être activés dans l’oeil y sont reprogrammés en lymphocytes T régulateurs aux propriétés immunosuppressives [3, 4, 5, 6]

Ces différents mécanismes sont résumés dans la figure 1.1.

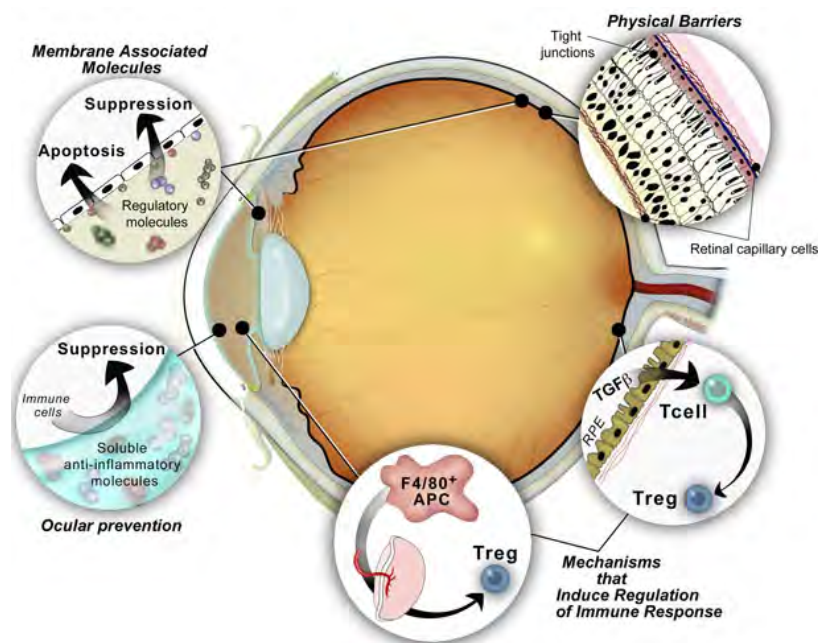


FIGURE 1.1 – Mécanismes du privilège immunitaire de l’oeil

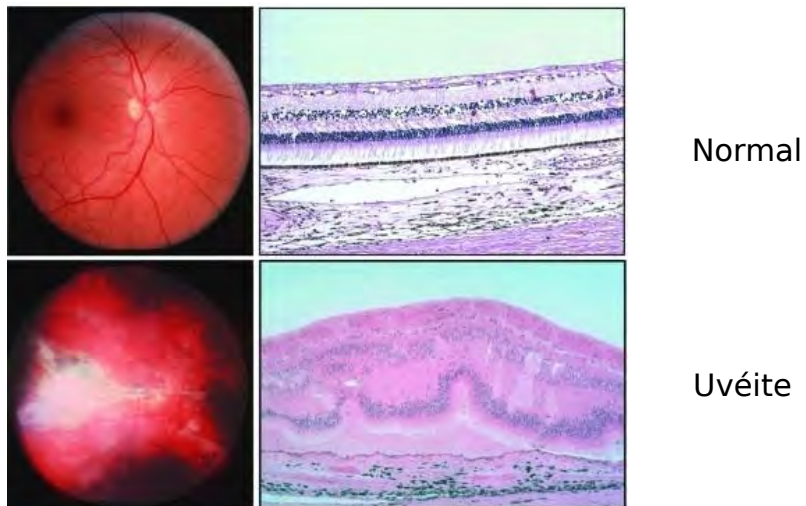
Modélisation animale de l'uvéite autoimmune

Dans ce contexte la survenue d'une uvéite autoimmune correspond au franchissement de ces multiples barrières protectrices contre l'inflammation. Pour comprendre comment cette rupture du privilège immunitaire peut survenir et les mécanismes physiopathologiques mis en jeu, un modèle animal d'uvéite expérimentale autoimmune a été développé par Rachel Caspi et al en 1988 [7]. Ce modèle animal peut être obtenu par une immunisation avec des antigènes rétiniens, comme l'interphotoreceptor binding proteine (IRBP) ou l'antigène rétinien S soluble (arrestine) en présence d'adjuvant et sur des lignées de souris susceptibles génétiquement. L'IRBP est une grande molécule de 140 kDa qui est localisée dans la rétine au niveau des photorécepteurs et qui permet le transport des rétinoïdes entre les photorécepteurs et l'épithélium pigmentaire [8]. Elle est hautement conservée dans l'évolution et n'est exprimée que dans l'oeil et la glande pinéale (parfois nommée le "3ème oeil"). L'immunisation d'une souche de souris prédisposée comme les souris C57BL/6 à l'aide du peptide correspondant aux 20 premiers acides aminés de l'IRBP (ou IRBP p1-20) injecté en sous cutané en présence d'adjuvant conduit à l'obtention d'une uvéite postérieure démarrant environ 12 jours après l'immunisation et comparable cliniquement et histologiquement à une uvéite postérieure humaine (Figure 1.2) [9, 10].

Ce modèle animal a permis de mieux comprendre les phénomènes immunologiques responsables du déclenchement de l'uvéite, ainsi que ceux permettant la guérison de l'inflammation. Il a ainsi été mis en évidence le rôle central de la réponse des lymphocytes T de type CD4 auxiliaires. Ces lymphocytes présentent deux voies de différenciation opposées, les voies Th1 et Th2, avec classiquement un rôle pathogène des lymphocytes Th1, et un rôle protecteur des lymphocytes médiant la voie Th2. Les lymphocytes Th1 sécrètent l'interféron gamma ($\text{IFN-}\gamma$) et le Tumor Necrosis Factor alpha ($\text{TNF-}\alpha$) qui sont des cytokines proinflammatoires, et les lymphocytes Th2 sécrètent notamment les interleukines IL-4, IL-10 qui protègent contre l'inflammation [12, 13, 14, 15].

Néanmoins ce modèle a été mis en défaut par la découverte que les souris génétiquement modifiées pour ne pas pouvoir exprimer l'interféron gamma ($\text{IFN-}\gamma$ knock-out) n'étaient pas protégées contre l'induction d'une uvéite, mais au contraire développaient des uvéites beaucoup plus sévère que les souris contrôles [16, 17]. Des contradictions similaires ont été retrouvées dans d'autre modèle de maladies autoimmunes initialement attribuées aux lymphocytes Th1, comme l'encéphalomyélite autoimmune et l'arthrite autoimmune. Ce paradoxe a été en partie expliqué par des travaux plus récents qui ont mis

Chez l'Homme



Chez la souris

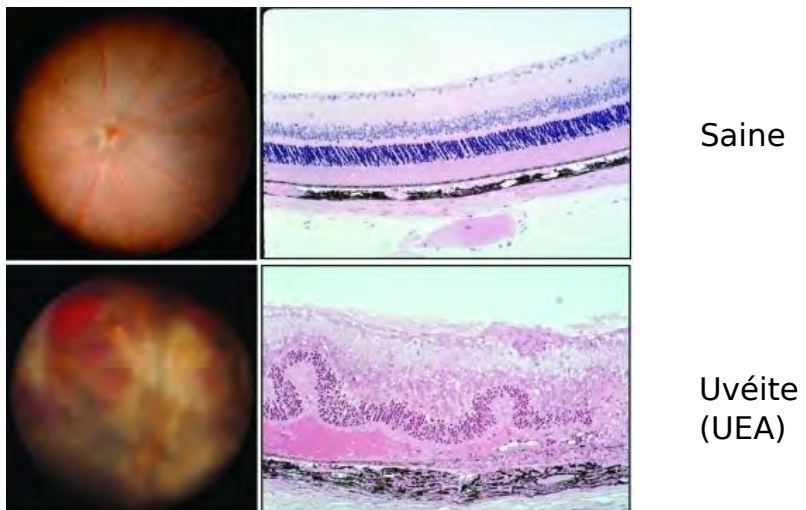


FIGURE 1.2 – Comparaison de l'uvéite postérieure humaine et de l'uvéite expérimentale auto-immune murine (d'après Rachel Caspi,[11]).

en évidence l'existence d'une autre voie pathogène, médiée par des lymphocytes sécrétant notamment l'interleukine IL17. Les lymphocytes de cette "voie Th17" synthétisent l'IL17, l'IL6, IL21, l'IL22 et le TNF- α , et leur croissance dépend de l'IL23 synthétisée par les cellules présentatrices d'antigène (figure 1.3).

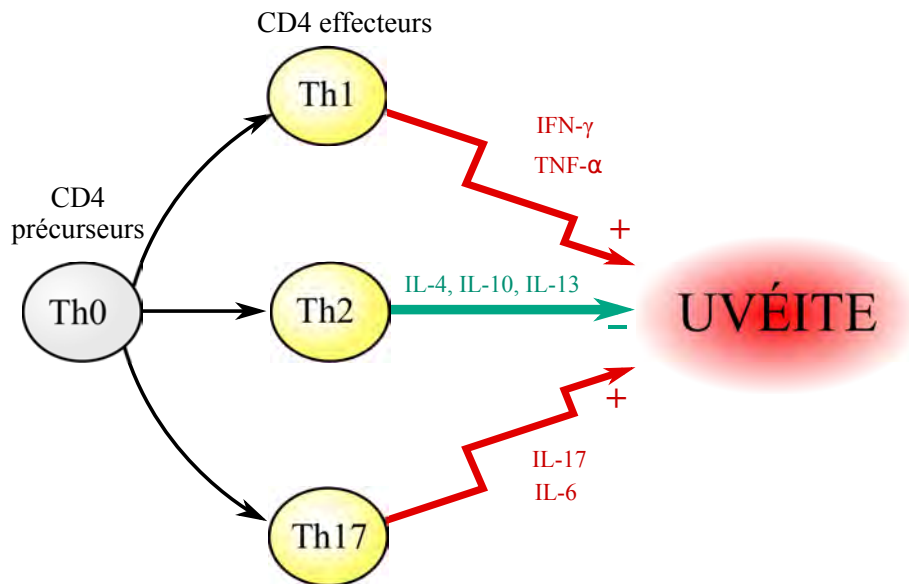


FIGURE 1.3 – Rôle des lymphocytes CD4 dans l'uvéite auto-immune

Les lymphocytes Th17 ont un rôle central dans l'inflammation dans de nombreuses maladies auto-immunes [18, 19, 20, 21]. Dans l'uvéite expérimentale auto-immune, les lymphocytes Th17 sont hautement pathogènes [22, 23], et l'orientation entre une voie Th1 ou une voie Th17 semble dépendre des conditions initiales où l'autoimmunité s'est installée [6] [24]. L'importance de la voie Th17 commence ainsi à être démontré chez l'Homme dans des uvéites auto-immunes comme la maladie de Behçet [25], la maladie de Vogt Koyanagi Harada [26] et la maladie de Birdshot [27].

Traitements conventionnels et nouvelles approches thérapeutiques

Les traitements généraux conventionnels de l'uvéite auto-immune comprennent les corticoïdes et les immunosuppresseurs. Ces traitements présentent des effets secondaires lourds, d'autant plus qu'ils sont souvent nécessaires pour une durée prolongée, voire pendant plusieurs années. Les efforts se sont donc progressivement portés vers la recherche d'alternatives plus ciblées, privilégiant une immunomodulation de la réponse en minimisant l'immunosuppression.

Grâce à une meilleure compréhension des mécanismes des uvéites autoimmunes, de nouvelles thérapeutiques ont pu être développées afin de cibler des molécules clefs dans l'inflammation, comme le TNF- α avec les anticorps anti-TNF et les récepteurs solubles du TNF [28, 29, 30].

Les inhibiteurs de tyrosine kinase : imatinib et sunitinib

Parmi ces nouvelles immunothérapies, un intérêt récent est porté aux inhibiteurs de tyrosine kinase. Les tyrosines kinases sont des molécules caractérisées par leur capacité à transférer un groupe phosphate sur des protéines cibles provoquant ainsi leur activation. Elles ont un rôle central dans de nombreux mécanismes cellulaires, et on en distingue deux formes : les récepteurs tyrosines kinases jouant un rôle central dans la transduction des signaux extracellulaires, et les tyrosines kinases intracellulaires qui relaient des signaux à l'intérieur de la cellule.

Les inhibiteurs de tyrosine kinase ont montré leur efficacité premièrement en oncologie dans le traitement des leucémies myéloïdes chroniques, des cancers du rein et de certaines tumeurs gastriques [31, 32].

Leur propriété anti inflammatoire à été mise en évidence sur des modèles animaux puis chez l'Homme dans diverses maladies autoimmunes. Ainsi l'imatinib (commercialisé sous le nom de gleevec[®], Novartis) est un inhibiteur spécifique de certaines tyrosines kinases parmi lesquelles Abl-kinase, Lck, PDGFR (Platelet-Derived Growth Factor Receptor), c-KIT, et M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor) [33]. Il a montré son efficacité dans plusieurs modèles animaux de maladies autoimmunes et chez l'Homme dans l'arthrite autoimmune, la spondylarthrite ankylosante, l'hépatite autoimmune, et le diabète [34, 35, 36, 37, 38]. *In vitro*, l'imatinib provoque une inhibition de la prolifération des lymphocytes T, et *in vivo*, une diminution de l'hypersensibilité retardée de type IV, ce qui explique son intérêt dans le traitement des maladies autoimmunes où le rôle des lymphocytes T est prépondérant [39]. De plus il a été montré récemment que l'imatinib possède des propriétés inhibitrices sur la production de TNF- α ce qui en fait une cible potentiellement intéressante dans l'uvéite autoimmune où cette cytokine proinflammatoire joue un rôle majeur [40].

Issu de la même famille d'inhibiteur de tyrosine kinase, le sunitinib (ou Sutent[®], Pfizer) a notamment comme cibles spécifiques le récepteur du VEGF, le récepteur du PDGF,

“Fms-like tyrosine kinase 3” ou FLT3 et c-kit [41, 33]. Développé initialement dans le traitement du cancer du rein, il a démontré dans des modèles expérimentaux des propriétés immunomodulatrices particulièrement intéressantes dans l’inflammation. Le sunitinib inhibe la prolifération et l’activation des lymphocytes T *in vitro* chez l’Homme, et bloque les réponses immunitaires des lymphocytes T chez la souris [42]. Dans un modèle murin d’asthme, le sunitinib a permis une réduction de l’inflammation et du remodelage des voies respiratoires [43]. Récemment il a été découvert qu’il présentait une efficacité notable dans le traitement du diabète de type I, dont la physiopathologie présente certaines similitudes avec l’uvéite autoimmune, avec notamment un rôle central des lymphocytes CD4 de type Th1 [34, 44]. De plus, le sunitinib inhibe le récepteur du VEGF, dont le rôle dans l’inflammation de la rétine et la rupture de la barrière hémato-rétinienne est établi dans de nombreuses études ce qui lui confère un intérêt potentiel particulier dans le traitement de l’uvéite autoimmune expérimentale [45, 46, 47, 48].

Les inhibiteurs du protéasome : bortezomib

Enfin une autre classe thérapeutique, les inhibiteurs du protéasome, pourrait s’avérer intéressante dans le traitement de l’uvéite autoimmune. En effet, le protéasome est un complexe multi-enzymatique intracellulaire qui permet la dégradation de la majorité des protéines de la cellule. Il est ainsi responsable de la dégradation de l’inhibiteur I κ B, provoquant la libération de la molécule NF κ B qui est un facteur transcriptionnel impliqué dans la transcription de nombreuses cytokines inflammatoires dont le TNF- α . L’inhibition du protéasome permet ainsi de bloquer l’activation de NF κ B, et la production subséquente de cytokine inflammatoire. Il a été montré que la voie NF κ B jouait un rôle important dans le développement de l’inflammation de la cornée et de la conjonctive [49]. Parmi les inhibiteurs du protéasome, le bortezomib (commercialisé sous le nom de Velcade[®]) a fait la preuve de son efficacité dans l’arthrite autoimmune avec une réduction de la sévérité de l’arthrite et de la production de cytokines inflammatoires [50]. Il semble diminuer la production des cytokines Th1 [51], et paraît ainsi une piste intéressante dans l’uvéite expérimentale autoimmune [52, 53, 54].

Nous avons souhaité étudier les possibilités thérapeutiques de ces trois molécules prometteuses dans l’uvéite autoimmune expérimentale. Pour ce faire nous avons induit une uvéite par immunisation avec la peptide IRBP sur des lignées de souris susceptibles C57BL/6, puis nous les avons traitées à l’aide soit de sunitinib, soit d’imatinib, ou soit

de bortezomib. Notre critère principal était clinique avec l'incidence et la sévérité des uvéites en fonction du traitement utilisé.

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

2.1 Animaux

Nous avons utilisé des souris femelles C57BL/6 (H-2^b) âgées de 6 semaines (laboratoire Harlan, Gannat, France). Les animaux ont été hébergés dans des cages ventilées avec un accès libre à l'eau et à la nourriture. Quatre groupes de souris ont été constitués, l'un recevant du sunitinib ($n = 10$), un autre recevant de l'imatinib ($n = 11$), un du bortezomib ($n = 10$) et un groupe témoin recevant des injections de PBS (5 souris) ou de l'huile d'arachide par voie orale (5 souris). Suite à l'immunisation (J0) des fonds d'yeux ont été réalisés à J16, J20 et J23 afin de suivre l'évolution de la maladie. Le sérum et les organes des souris (yeux et rates) ont été collectés 27 jours après l'immunisation. Les expériences ont été conduites en accord avec les réglementations vétérinaires de notre institution.

2.2 Immunisation à l'aide d'un antigène rétinien

Les 40 souris ont été immunisées par injection du peptide 1-20 dérivé de l'*interphotoreceptor retinoid binding protein* (IRBP p1-20) d'origine humaine (Pr. Vidal, Faculté de Pharmacie, Paris V). Il s'agit d'un peptide constitué des 20 premiers acides aminés de la protéine IRBP, et il s'agit du plus pathogénique des peptides dérivés de l'IRBP chez les souris C57BL/6.

2.3 Induction de l'uvéite autoimmune expérimentale (UAE) chez les souris C57BL/6 par le peptide p1-20 de l'IRBP

L'UAE a été induite (J0) chez les souris C57BL/6 par injection sous-cutanée d'une émulsion répartie en 3 sites d'injection (base de la queue et cuisses). L'émulsion a été obtenue par sonication d'un mélange composé à parts égales d'une solution à 1.5 mg/ml de peptide p1-20 et d'adjuvant complet de Freund enrichi de 1.5 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis* (souche H37RA). Une injection d'adjuvant supplémentaire de 1µg/200 µl de toxine de *Bordetella pertussis* (PTX) (Sigma), a été réalisée simultanément par voie intrapéritonéale (IP). Après l'immunisation les 40 souris ont été séparées aléatoirement en quatre groupes de 10 souris :

- contrôles,
- souris traitées par sunitinib,
- souris traitées par imatinib,
- et souris traitées par bortezomib.

2.4 Administration des traitements

Les souris ont été traitées par sunitinib et imatinib par voie orale (par gavage dans de l'huile d'arachide) une fois par jour, 5 jours sur 7 à partir de l'immunisation et jusqu'au sacrifice. Le groupe traité par sunitinib a reçu 50 mg/kg/jour de sunitinib. Le groupe traité par imatinib a reçu 50 mg/kg/jour d'imatinib. Les souris traitées par bortezomib ont reçu une injection de 0.1mg/kg de bortezomib dans 200 microlitres de PBS, par voie intrapéritonéale, 2 fois par semaine à partir de l'immunisation.

Les souris du groupe témoin ont été divisées en deux groupes, 5 souris recevant un gavage par huile d'arachide seule, 5 souris recevant des injections intra péritonéales de PBS, selon les mêmes modalités.

2.5 Évaluation clinique de l'uvéite autoimmune expérimentale

L'incidence, la progression et la sévérité de l'uvéite ont été évaluées cliniquement strictement en aveugle par la réalisation d'examens du fond d'œil des souris. Les pupilles des animaux ont été dilatées par instillation d'une goutte de tropicamide 0.5% et une goutte de néosynéphrine diluée à 0.1% dans chaque oeil. Cinq minutes plus tard, après confirmation de la mydriase, le fond d'œil a été examiné à l'aide d'une lampe à fente (Nikon 3F-SV) et d'une lentille d'examen non-contact de type Super Pupil XL (Volk Optical). Les souris n'ont pas été anesthésiées mais maintenues manuellement en face de la lentille d'examen qui a été placée dans un portoir ajustable réalisé sur mesure. La mise au point du système optique permettant l'acquisition de photographies numériques du fond d'œil a permis de réaliser des photographies du segment postérieur à l'aide d'une caméra numérique de type Olympus DP-70.

TABLE 2.1 – Score clinique (Basé sur le score de Whitcup et coll.)

Score	Critère
0	Pas de changement
0.5	1 à 2 petites lésions focales périphériques ; vascularites minimes péri papillaires
1	Vascularites moyennes ; infiltrats focaux < 5 ; infiltrats linéaires ≤ 1
2	Lésions chorioretiniennes et/ou infiltrats multiples > 5 ; vascularites sévères ; infiltrats linéaires < 5
3	Association lésions linéaires ; grandes lésions confluentes ; néovascularisation sous rétinienne ; hémorragies rétiniennes
4	décollement de rétine exsudatif

Un fond d'œil bilatéral en aveugle a été réalisé à chaque souris à partir du 16-ème jour après l'immunisation et à raison de 2 examens hebdomadaires jusqu'au sacrifice (J16, J20, J23). La sévérité de l'inflammation rétinienne a été évaluée strictement en aveugle selon un système de score clinique semi-quantitatif préalablement décrit et fondé sur la taille et le nombre des lésions inflammatoires observées. Brièvement, ce score est détaillé dans le Tableau 2.1 s'étend d'une échelle de cotation allant de 0 à 4 et est fondé sur le nombre et l'étendue des lésions de vascularites et de foyers inflammatoires chorioretiniens.

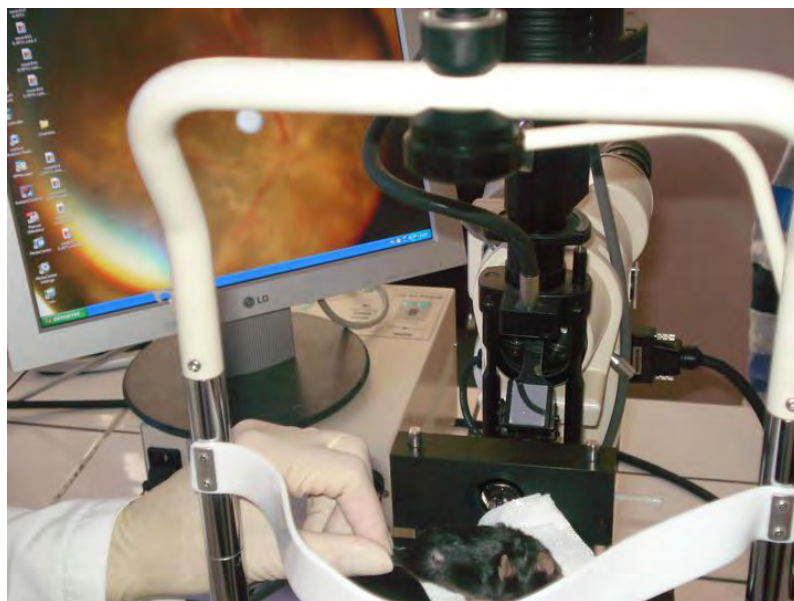
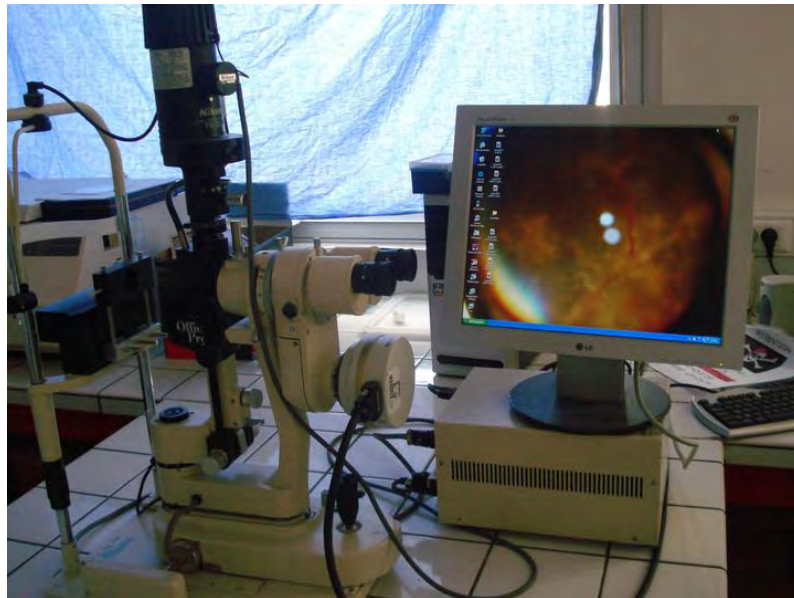


FIGURE 2.1 – Dispositif d'examen du fond d'œil : Lampe à fente photos couplée à une caméra numérique

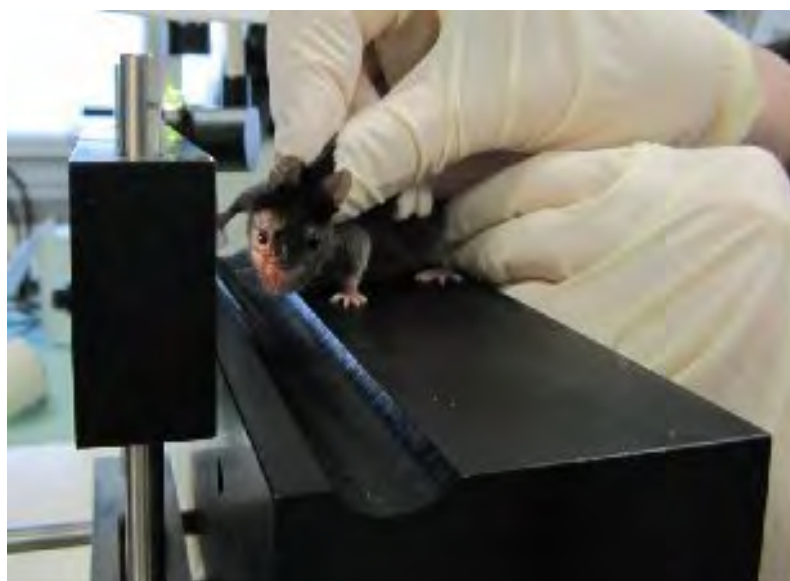
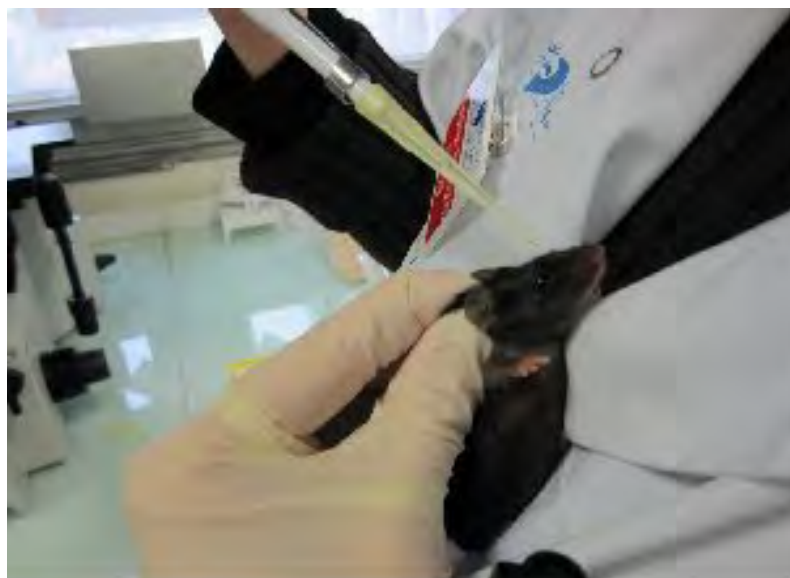


FIGURE 2.2 – Dilatation des pupilles et disposition de la souris sur le portoir ajustable de la lampe à fente

2.6 Étude de l'hypersensibilité retardée par test cutané

Afin d'évaluer s'il existe une hypersensibilité retardée vis à vis de l'autoantigène, les souris ont reçu à J 14 une injection intradermique de 10 µg de peptide IRBP p1-20 dilués dans 10µl d'eau stérile. L'injection a été faite par voie intra-dermique au niveau de la partie supérieure du lobe de l'oreille droite de chaque souris à l'aide d'une aiguille 30-gauges montée sur une seringue Hamilton (Hamilton, Switz). La détermination de l'hypersensibilité retardée (DTH) a été effectuée 48 heures après en mesurant à l'aide d'un pied à coulisse numérique l'épaisseur de l'oreille injectée par rapport à l'oreille non injectée. Les résultats sont exprimés en millimètres.

2.7 Examens histopathologiques

Les souris ont été sacrifiées à J27, et le sérum, les yeux ainsi que les rates ont été prélevées. Les yeux ont été immédiatement pré-fixés dans une solution de glutaraldéhyde à 4% pendant 1 heure afin d'éviter un décollement de rétine artéfactuel, puis fixés dans du formaldéhyde (10%) pour 24h minimum. Les prélèvements ont été inclus en paraffine de façon à réaliser des coupes sagittales de 5 µm d'épaisseur au microtome. Plusieurs coupes étagées, allant de l'extrême périphérie rétinienne jusqu'au nerf optique ont été analysées pour chaque œil. Pour l'étude histopathologique, les coupes ont été colorées à l'hématoxyline et à l'éosine puis photographiées au fort grossissement. L'incidence et la sévérité de la maladie ont été évaluées pour chaque œil selon une échelle de cotation semi-quantitative décrite dans le Tableau 2.2 page suivante. Les principales lésions histologiques observables sont la désorganisation de la couche nucléaire externe des photorécepteurs, les granulomes rétiniens et sous rétininens, la présence d'infiltrats cellulaires vitréo-rétiniens, et les décollements de rétine localisés.

TABLE 2.2 – Score histologique (Basé sur le score de Caspi et coll.)

Score	Critère
0	Pas de changement
0.5	Infiltration minimale de cellules inflammatoires dans le vitré et la rétine ; absence de lésions tissulaires
1	Infiltration leucocytaire modérée ; granulomes rétinien et sous-rétinien de petite taille ; dommages focaux de la couche des photorécepteurs
2	Infiltration leucocytaire importante ; cellules photoréceptrices endommagées ; lésions granulomateuses de taille moyenne
3	Forte infiltration leucocytaire ; dommages focaux de la couche des photorécepteurs ; foyers de décollement de rétine ; lésions granulomateuses de taille moyenne ; néovascularisation subrétinienne ; hémorragies sous rétiniennes limitées.
4	Décollements de rétine étendus ; désorganisation totale du tissu rétinien ; grandes lésions granulomateuses ; hémorragies sous rétiniennes étendues.

2.8 Étude de la réponse proliférative spécifique d'antigène

L'activation spécifique des lymphocytes T vis à vis de l'autoantigène a été mesurée par l'étude de la prolifération *in vitro* des lymphocytes préparés à partir des rates prélevées. Les cellules ont été isolées, comptées et incubées dans des plaques de culture de 96 puits à la concentration de $4 \cdot 10^5$ cellules par puits dans du milieu (milieu RPMI 1640 supplémenté avec 1% de sérum de souris, 1% d'acide aminés non essentiels, 1% de pyruvate de sodium et $50 \mu\text{M}$ de 2-mercaptoéthanol), puis incubées à 37° en présence du peptide IRBP p1-20 pendant 72h. L'incorporation de thymidine tritiée ($0.5 \mu\text{Ci}$ /puits) dans les puits de culture pendant les 18 dernières heures a permis de compter les cellules qui ont proliféré en présence de l'antigène au compteur à scintillation.

Les splénocytes ont été répartis en quadruplicates, soit pour chaque souris 4 puits dans du milieu de culture seul, et 4 puits en présence du peptide IRBP p1-20 à une concentra-

tion de 10µg/ml. La moyenne des 4 puits de chaque expérience a été prise en compte. Les résultats sont exprimés en coups par minute (cpm).

2.9 Étude de la production de cytokines spécifiques d'antigène

L'évaluation de la production de cytokines spécifiques de l'antigène par les splénocytes a été réalisée pour chaque groupe. Une quantité de $2 \cdot 10^6$ cellules a été distribuée en triplicates dans des plaques de culture 96 puits à fond rond et incubées 72 heures soit dans du milieu de culture seul, soit en présence du peptide IRBP p1-20 à une concentration de 10 µg/ml, soit en présence de Concavaline A à la concentration de 5 µg/ml. Les surnageants ont été prélevés et les cytokines produites dans les puits de culture par les splénocytes ont été mesurées. Les productions d'IL-4, d'IFN- γ et d'IL17 ont été mesurées à l'aide de kits ELISA (BD Bioscience®, San Jose, CA, USA) en accord avec les instructions du fabricant. Les résultats sont exprimés en pg/mL.

2.10 Dosage sérique des anticorps

Les taux sériques des immunoglobulines IgG spécifiques à l'IRBP ont été déterminés dans le sérum des souris immunisées par une technique immuno-enzymatique ELISA. Des plaques de microtitration 96 puits ont été coatées avec le peptide p1-20 IRBP à raison de 0.1µg de peptide par puits (1µg/ml) dans une solution de tampon bicarbonates et laissées une nuit à 4°C. Après saturation des plaques avec du BSA 1%, les plaques ont été incubées jusqu'au lendemain avec les sérums à tester dilués au 1/50 à raison de 100µL de sérum par puits. Les plaques ont été révélées à l'aide d'anticorps de chèvre anti-IgG de souris conjugués à la Phosphatase alcaline. Les densités optiques ont été lues à 405 nm sur un lecteur de microplaques Dynatech MR 5000 (Dynex technology). Le taux des IgG totales est exprimé en g/L.

2.11 Analyse de la distribution et des caractéristiques phénotypiques des splénocytes par cytométrie en flux

Après lyse des érythrocytes dans une solution d'acétate de potassium les splénocytes ont été comptés sur lame de Malassez et distribués dans des plaques de culture 96 puits à fond rond à la concentration de 10^6 cellules par puits dans du PBS enrichi avec 3% de SVF (Sérum de Veau Foetal). Après lavage, les cellules ont été incubées pendant 1h à 4°C, à l'abri de la lumière avec des anticorps spécifiques. Les anticorps utilisés proviennent de chez BD Bioscience et sont utilisés à $1\mu\text{g}/10^6$ cellules.

L'acquisition des cellules marquées a été réalisée par un FACScanto (BD Bioscience). Les compensations automatiques ont été réalisées sur les splénocytes non marqués ou marqués par les différents fluorochromes pris séparément. Les résultats obtenus ont été analysés avec le logiciel Flow Jo (BD Bioscience).

2.12 Analyses en immunohistochimie du récepteur du VEGF de type 2 phosphorylé

Lors du sacrifice, les yeux des souris ont été prélevés et préfixés dans une solution de glutéraldéhyde à 4% pendant 1 heure, puis fixés dans du formaldéhyde (10%) pour 24h minimum. Les prélèvements ont été inclus en paraffine de façon à réaliser des coupes sagittales de $5\mu\text{m}$ d'épaisseur au microtome. Plusieurs étages de coupe allant de la périphérie de l'œil jusqu'au niveau du nerf optique ont été réalisés. Les coupes ont ensuite été déparaffinées par des bains successifs de substitut au xylène puis réhydratées dans des bains d'alcool. Les peroxydases endogènes ont été bloquées en incubant le tissu dans du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 3% pendant 20 minutes à 37°C, puis digestion enzymatique par une protéinase K pendant 20 minutes à 37°C. Après saturation avec de la BSA 6% à 4°C pendant 20min, les coupes ont été incubées une nuit avec l'anticorps primaire anti-récepteur du VEGF-2 phosphorylé (p-Flk-1, Santacruz Biotechnology), les coupes ont ensuite été rincées et incubées une heure avec un anticorps secondaire couplé à une peroxydase (anticorps chèvre anti-lapin HRP, DakoCytomation), et révélées à l'aide d'un

substrat chromogène le diaminobenzadine (DAB). Les coupes ont été ensuite montées sur lamelle à l'aide d'un substitut au xylène et lut au microscope DMR Leica pour lumière blanche. Des photos ont été réalisées à l'aide d'une caméra Sony couleur reliée au microscope et à un ordinateur disposant d'un logiciel IM 1000.

2.13 Dosage sérique du VEGF

La concentration du VEGF circulant a été mesurée dans le sérum des souris. Les concentrations sériques ont été mesurées à l'aide du kit Mouse VEGF ELISA DuoSet, (R&D Systems), en accord avec les instructions du fabricant.

2.14 Dosage sérique des nitrites

Les dosages des nitrites dans les sérum des patients ont été réalisés à l'aide de la réaction directe de Griess, qui est la méthode de mesure la plus communément utilisée. Les dosages ont été réalisés au sein du laboratoire de Biochimie de l'Hôpital Cochin (Paris V).

2.15 Analyses statistiques

Les variables ont été comparées à l'aide du test de Student, sauf pour les variables dont la distribution ne suivait pas une loi normale. Pour ces dernières, un test non paramétrique a été préféré, le test signé des rangs (test de Wilcoxon). Le seuil de significativité retenu était pour tous les tests de 5%, une valeur $p < 0.05$ étant considérée comme significative. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel SAS v8.01 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Chapitre 3

Résultats

3.1 Résultats cliniques

Nous avons réalisé trois séries de fond d'yeux à J16, J20, et J23 après l'immunisation sur nos 4 groupes de souris. Les fonds d'yeux ont été réalisés en aveugle et à l'aide de notre système de lampe à fente couplée à une caméra numérique permettant la réalisation de photographies simultanées du fond d'oeil. Les résultats sont exposés dans le tableau 3.1. et résumés dans la figure 3.3.

Dans le groupe témoin constitué de 10 souris soit 20 yeux, nous avons relevé à J16, 8 yeux sur 20 présentant une uvéite postérieure cliniquement significative (avec un score strictement supérieur à 0.5). A J20 on notait 10 yeux atteints sur 20 et à J23, 13 yeux sur 20 présentaient une uvéite postérieure significative.

Dans le groupe bortezomib comprenant 10 souris, les résultats sont restés similaires au groupe témoin avec à J16, 3 yeux sur 20 atteints d' uvéite postérieure significative, à J20 et J23 respectivement 8 et 11 yeux sur 20 présentant une uvéite postérieure significative.

Dans le groupe Imatinib comprenant 11 souris soit 22 yeux, on notait un retard d'apparition de l'inflammation oculaire avec à J16 aucun oeil atteint, mais à J20 et J23 respectivement 5 puis 11 yeux sur 22 atteints d'uvéite postérieure significative.

TABLE 3.1 – Résultats cliniques : Incidence de l'uvéïte à J16, J20 et J23 après l'immunisation.

Les uvéïtes sont quotés de 0 à 4 selon le score clinique de Whitcup et coll. (voir Tableau 2.1 page 37)

	J 16		J 20		J 23	
	OD	OG	OD	OG	OD	OG
GROUPE TEMOIN Huile						
Souris 1	0.5	0	1.5	1	2	2
Souris 2	1	1.75	0	2	0.5	1
Souris 3	2	2	3	3	2	2
Souris 4	0	0	0	0	0	1
Souris 5	0	0.5	0	0.5	1	0.5
GROUPE TEMOIN PBS						
Souris 1	2	1.5	1	1	2	2.5
Souris 2	0	0	0	1	1	1
Souris 3	0	0	0	0	0	0.5
Souris 4	0	0	0	0	0	0
Souris 5	2	1	2	2	1	2
GROUPE IMATINIB						
Souris 1	0	0	1	0.5	2	1
Souris 2	0.5	0.5	0	0.5	1	1
Souris 3	0.5	0.5	1	0.5	2	1
Souris 4	0	0	0	0	0	0.5
Souris 5	0.5	0	0.5	0	0	0
Souris 6	0.5	0	1	0	1	1
Souris 7	0	0	0	0	0	0
Souris 8	0	0.5	0.5	0	1.5	0.5
Souris 9	0	0.5	1	2	1.5	1.5
Souris 10	0	0	0	0.5	0	0
Souris 11	0	0	0	0	0	0
GROUPE BORTEZOMIB						
Souris 1	0.5	0.5	0.5	0.5	1	2
Souris 2	0.5	1	2	2	2	2
Souris 3	2	2 à 3	2	2 à 3	2	2
Souris 4	0.5	0.5	1	1.5	2	2
Souris 5	0	0	1	0	1.5	0
Souris 6	0	0	0	0	0	0
Souris 7	0	0	0	0	0	0
Souris 8	0	0	0	0	1	0
Souris 9	0	0	1	0	2	0.5
Souris 10	0	0	0	0	0	0
GROUPE SUNITINIB						
Souris 1	0	0.5	0	0.5	0	0.5
Souris 2	0	0	0	0.5	0	0.5
Souris 3	0	0	0	0	0	0
Souris 4	0	0	0	0	0	0
Souris 5	0	0	0	0	0	0
Souris 6	0	0	0.5	0	0.5	0.5
Souris 7	0	0	0	0	0.5	0.5
Souris 8	0	0	0	0	0	0.5
Souris 9	1.5	0.5	1	1	1.5	1.5

(En jaune pâle : score de 0.5 ; En orange : score de 1 à 2 non inclus ; En rouge : score supérieure ou égale à 2)

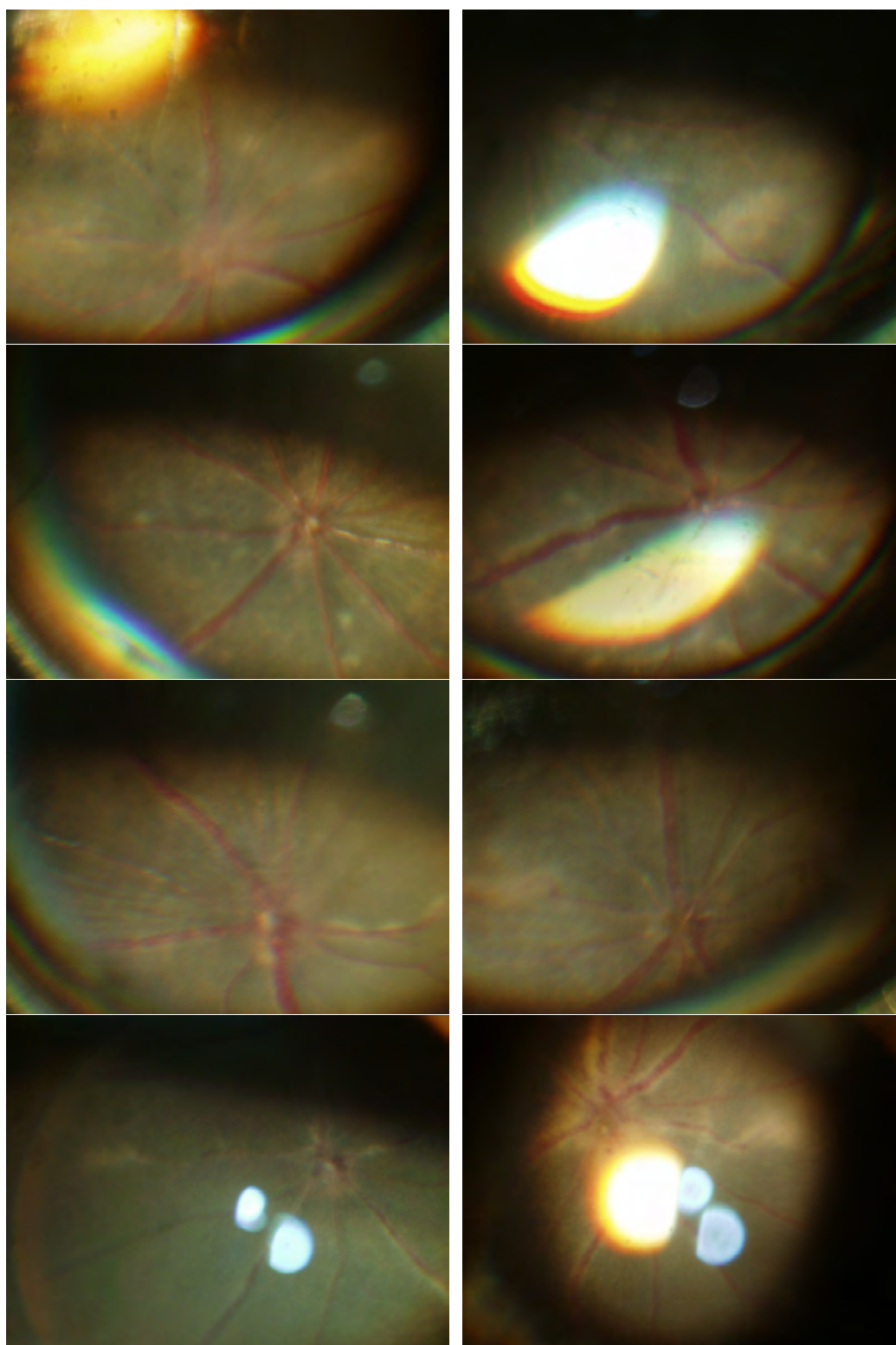


FIGURE 3.1 – Photographies du fond d’œil de souris atteintes du groupe témoin
Les lésions les plus fréquemment retrouvées étaient des vascularites rétiniennes et des foyers rétiniens, focaux ou linéaires, à prédominance péripapillaires.

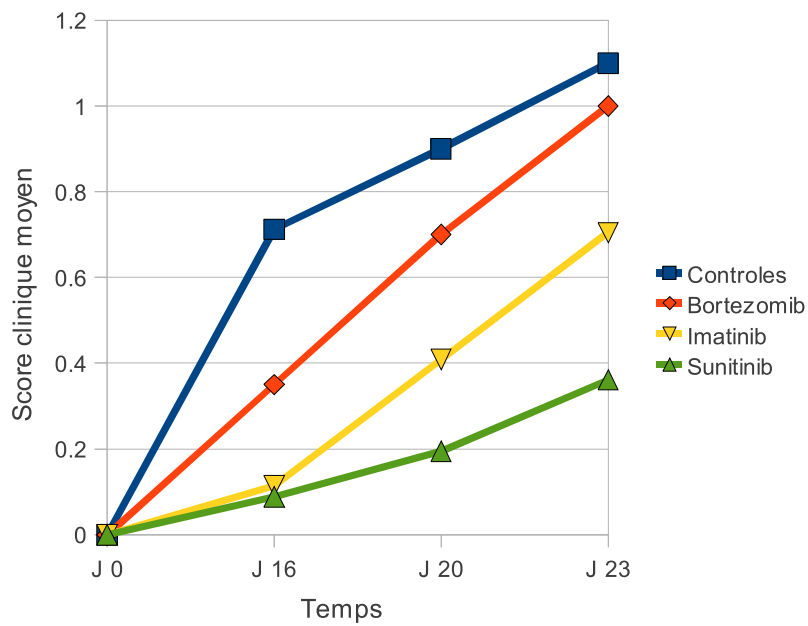


FIGURE 3.2 – Résultats cliniques

Score clinique de J0 à J23 (quoté selon le score clinique de Whitcup et coll.)

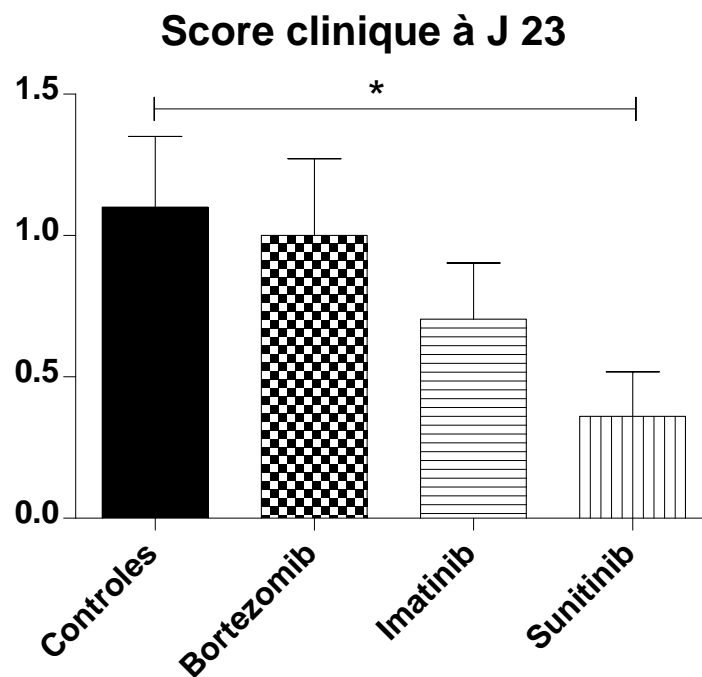


FIGURE 3.3 – Résultats cliniques

Comparaison des scores cliniques lors du dernier examen du fond d'oeil à J23. Seule la différence entre les groupes sunitinib et contrôles est significative, $p=0.02$).

Dans le groupe Sunitinib comprenant 9 souris soit 18 yeux, nous avons retrouvé une diminution significative de l'incidence des uvéites postérieures avec à J16, J20 et J23 une seule souris présentant une uvéite cliniquement significative soit 2 yeux sur 18 jusqu'à la fin de notre expérience.

Au final, lors de notre dernière série de fond d'yeux, réalisée 23 jours après l'immunisation, nous retrouvions un score clinique moyen de 1.1 pour le groupe témoin, de 1 pour le groupe bortezomib ($p=0.7$), de 0.70 pour le groupe imatinib ($p=0.28$) et de 0.36 pour le groupe sunitinib ($p=0.02$).

3.2 Résultats histologiques

L'analyse des coupes histologiques étagées de chacun des yeux prélevés a permis d'établir un score histopathologique pour le groupe témoin et le groupe sunitinib, dont les résultats sont exposés dans la figure 3.4

Dans le groupe témoin la moyenne du score histopathologique était de 0.95 (± 0.16). Dans le groupe sunitinib le score histopathologique moyen était de 0.19 (± 0.11) avec une différence significative avec le groupe témoin ($p=0.003$).

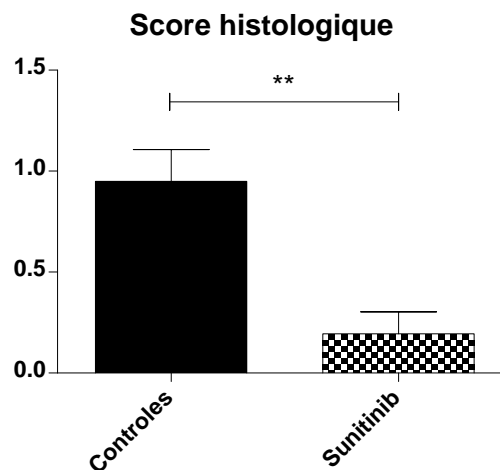


FIGURE 3.4 – Score histopathologique

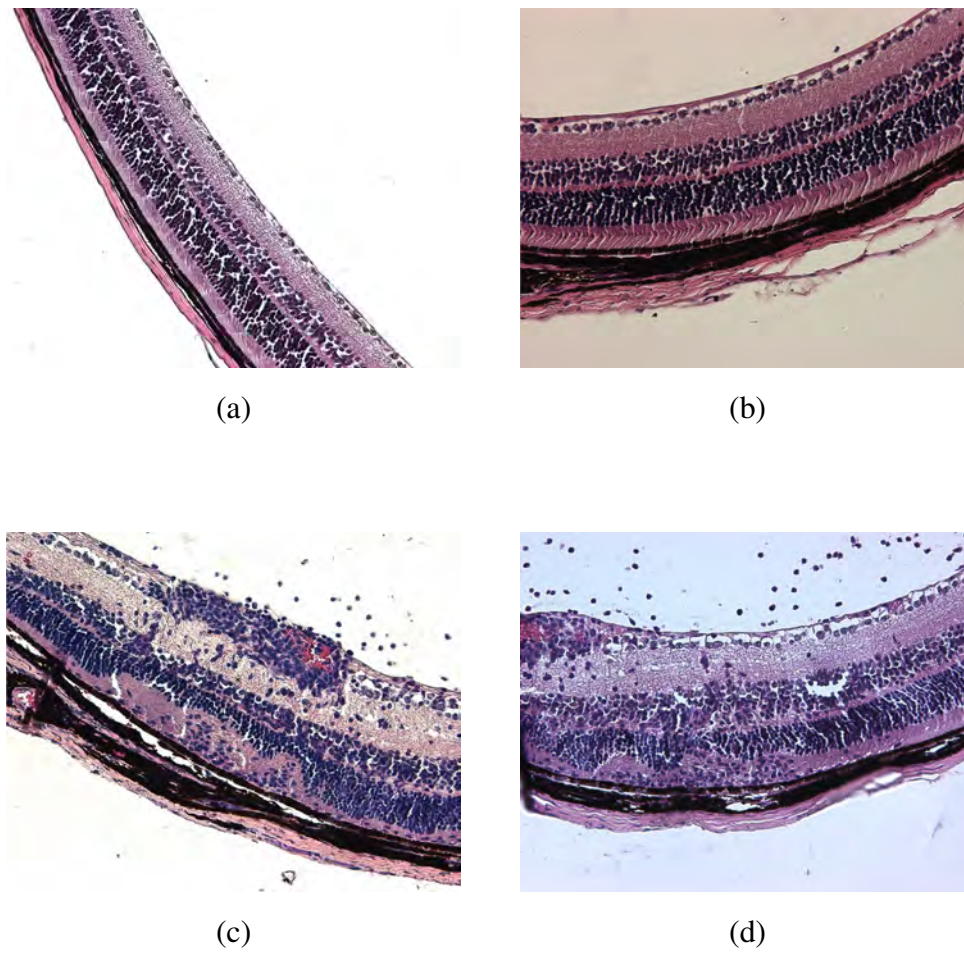


FIGURE 3.5 – Coupes histologiques.
(a) et (b) souris traitées par sunitinib. (c) et (d) souris du groupe contrôle.

3.3 Évaluation de la réponse lymphocytaire T spécifique de l'IRBP

3.3.1 Mesure de l'hypersensibilité retardée *in vivo*

Nous avons réalisé des tests cutanés avec une injection intra dermique d'une solution de peptide d'IRBP à J14 dans l'oreille des souris des 4 groupes. 48 heures après l'injection nous avons mesuré l'épaisseur de l'oreille afin d'évaluer la réponse T spécifique à l'antigène IRBP. Les résultats sont exposés dans la figure 3.6

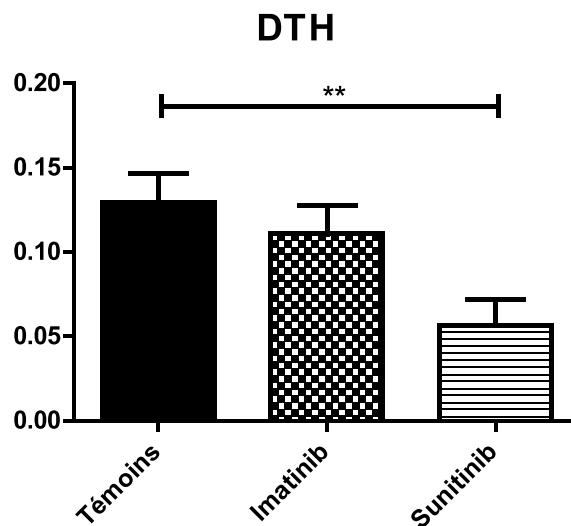


FIGURE 3.6 – Hypersensibilité retardée spécifique de l'IRBP

Nous avons mis en évidence une diminution significative de la réponse T du groupe sunitinib par rapport au groupe contrôle avec une moyenne dans le groupe contrôle de 0.13 (± 0.02), contre 0.06 (± 0.01) dans le groupe sunitinib ($p=0.01$). Il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes contrôles, bortezomib et imatinib.

3.3.2 Réponse lymphocytaire T *in vitro*

3.3.2.1 Réponse proliférative des splénocytes en présence d'IRBP

Nous avons ensuite analysé la réponse des lymphocytes spécifiques à l'antigène IRBP en comparant la prolifération des splénocytes des rates prélevées incubées en présence d'IRBP. Pour cela nous avons calculé les ratio entre la prolifération spécifiquement stimulée par l'IRBP et la prolifération de base en l'absence de stimulation, en comparant les résultats entre chaque groupe. Nous avons trouvé une diminution significative de la prolifération spécifique des lymphocytes T chez les souris traitées par sunitinib, comparée au groupe témoin et imatinib (respectivement 3.1 ± 0.41 , 4.35 ± 0.16 et 4.3 ± 0.38 ; avec $p=0.01$) (figure 3.7).

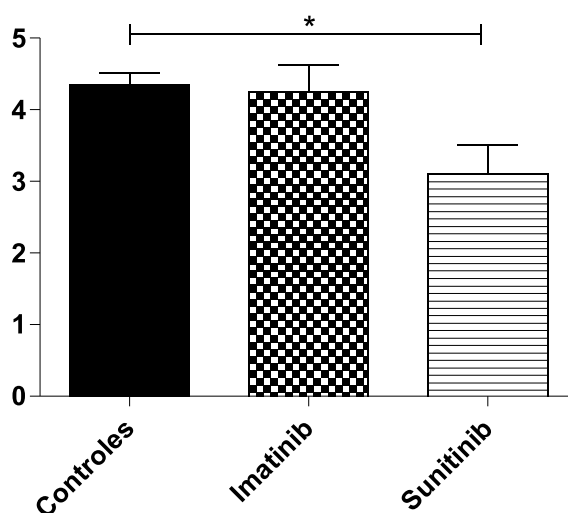


FIGURE 3.7 – Prolifération des lymphocytes spécifique de l'antigène IRBP

3.3.2.2 Réponse cytokinique des splénocytes

Afin de caractériser le mécanisme mis en jeu dans la prévention de l'uvéite expérimentale auto-immune par le sunitinib, nous avons voulu déterminer les réponse cytokiniques Th1 et Th17, classiquement pathogènes dans l'uvéite, ainsi que la réponse Th2 qui traduit la guérison de l'inflammation.

Nous avons ainsi évalué la production spécifique des cytokines par les splénocytes en incubant des splénocytes en présence du peptide d'IRBP, et en prélevant le surnageant à 72 heures pour doser les différentes cytokines potentiellement impliquées :

- l'IFN- γ pour la réponse Th1 ;
- l'IL4 pour la réponse Th2 ;
- et l'IL17 pour la réponse Th17.

Après stimulation de manière spécifique en présence de peptide IRBP, nous avons constaté une diminution significative de la production d'IL17 dans les souris du groupe sunitinib par rapport au groupe contrôle avec dans le groupe contrôle 62.94 (\pm 9.8) et pour le groupe sunitinib 39.5 (\pm 3.5) ($p=0.05$).

Nous avons ensuite stimulé la sécrétion de cytokines de manière aspécifique en présence de Concavaline A (Con A) et nous avons également mis en évidence une diminution de la production d'IL17 du groupe sunitinib par rapport au groupe contrôle.

Nous n'avons pas retrouvé de différences significatives dans les taux d'IFN- γ et d'IL4 entre les différents groupes (figure 3.8).

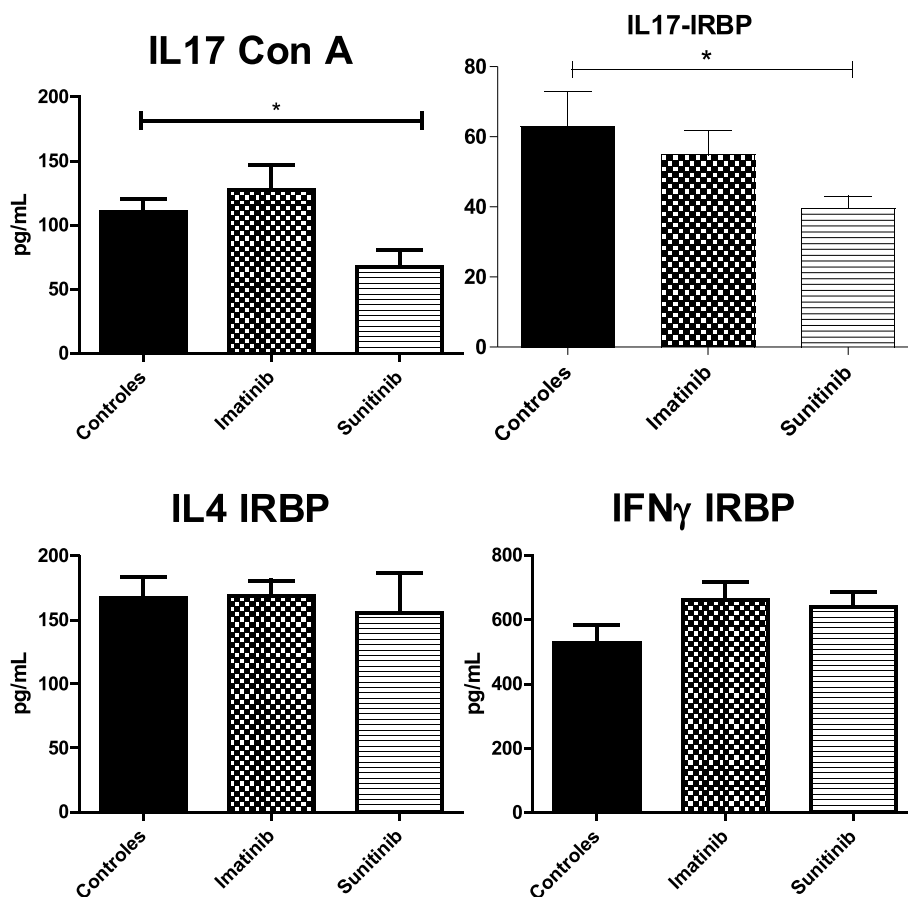


FIGURE 3.8 – Production des cytokines IL 17, IL4 et IFN- γ par les splénocytes en présence d'IRBP

3.3.3 Analyse des caractéristiques phénotypiques des lymphocytes T par cytométrie en flux

Compte tenu du rôle central des lymphocytes CD4 dans la pathogénèse de l'uvéite auto-immune, nous avons souhaité quantifier cette population au sein des splénocytes des rates prélevées, afin de rechercher si l'efficacité clinique constatée s'appuyait sur des propriétés immunosuppressives, par une déplétion en lymphocytes pathogènes, ou par des propriétés immunomodulatrices.

Nous n'avons pas retrouvé de différence dans la proportion globales de CD4 et CD8 entre les groupes témoins et sunitinib.

Nous avons ensuite comparé les proportions de lymphocytes naïfs et mémoires dans chacune des populations. Nous n'avons pas retrouvé de différence dans les compartiments naïfs et mémoires des lymphocytes CD4 et CD8 entre les groupes imatinib et sunitinib comparé au groupe contrôle (Figure 3.9).

- La population moyenne de CD4 naïfs du groupe témoin était de 14535 ± 2096 , pour l'imatinib de 17262 ± 1036 ($p=0.24$), et pour le sunitinib de 15614 ± 1524 ($p=0.69$).
- La population moyenne de CD4 mémoires du groupe témoin était de 13087 ± 1100 , pour l'imatinib de 15109 ± 545 ($p=0.08$), et pour le sunitinib de 15292 ± 454 ($p=0.06$).
- La population moyenne de CD8 naïfs du groupe témoin était de 29805 ± 3501 , pour l'imatinib de 33019 ± 1316 ($p=0.35$), et pour le sunitinib de 33990 ± 1790 ($p=0.29$).
- La population moyenne de CD8 mémoires du groupe témoin était de 5107 ± 692 , pour l'imatinib de 6116 ± 338 ($p=0.16$), et pour le sunitinib de 5405 ± 481 ($p=0.72$).

3.4 Réponse humorale

Après avoir caractérisé la réponse immunitaires des lymphocytes T, nous avons étudié la réponse des lymphocytes B en quantifiant d'une part la population de lymphocytes B au sein des splénocytes par cytométrie en flux, et d'autre part leur production d'anticorps spécifiques à l'IRBP.

Nous n'avons pas trouvé de différence entre les populations de lymphocytes B des groupes témoin et sunitinib (Figure 3.10 page suivante)

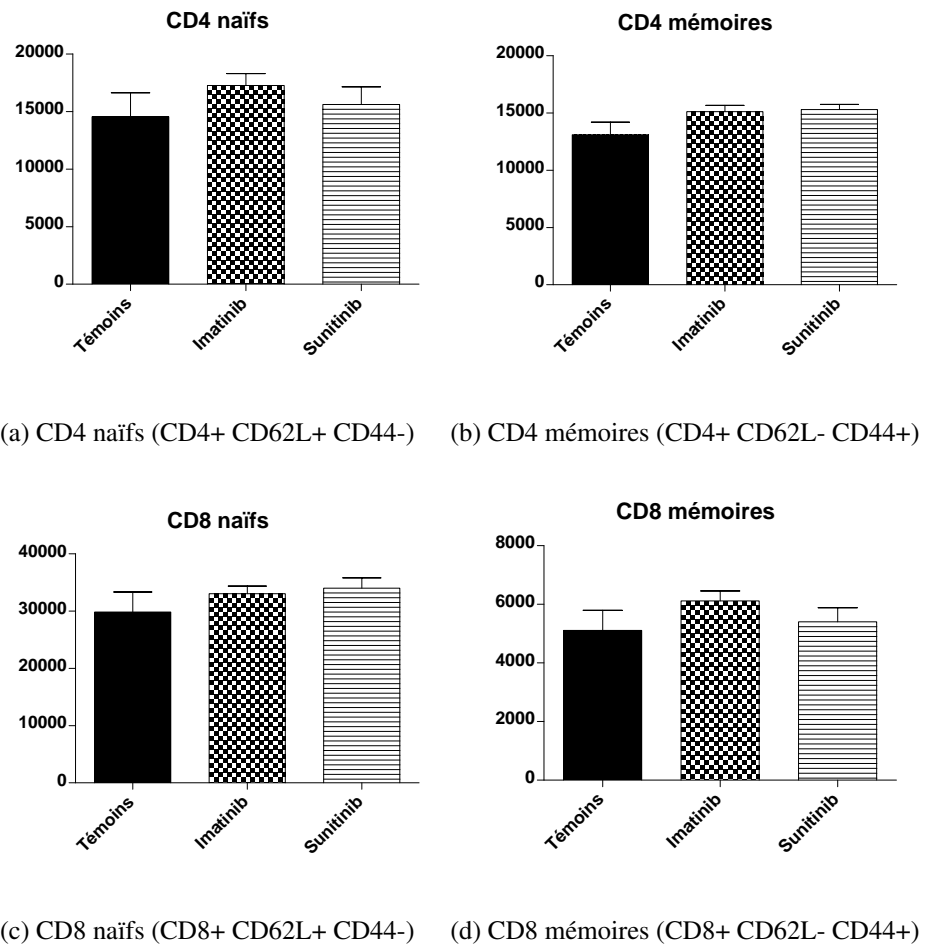


FIGURE 3.9 – Caractéristiques phénotypiques des lymphocytes T spléniques

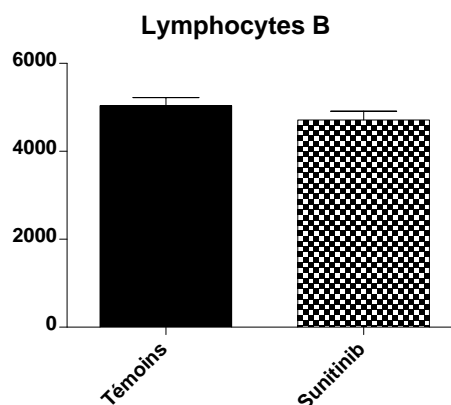


FIGURE 3.10 – Lymphocytes B

Nous avons analysé les taux sériques d'immunoglobuline de type Ig G spécifiques à l'IRBP dans les sérums des souris. Nous n'avons pas retrouvé de différences significatives dans les taux d'Ig G spécifiques à l'IRBP entre les trois groupes (figure 3.11).

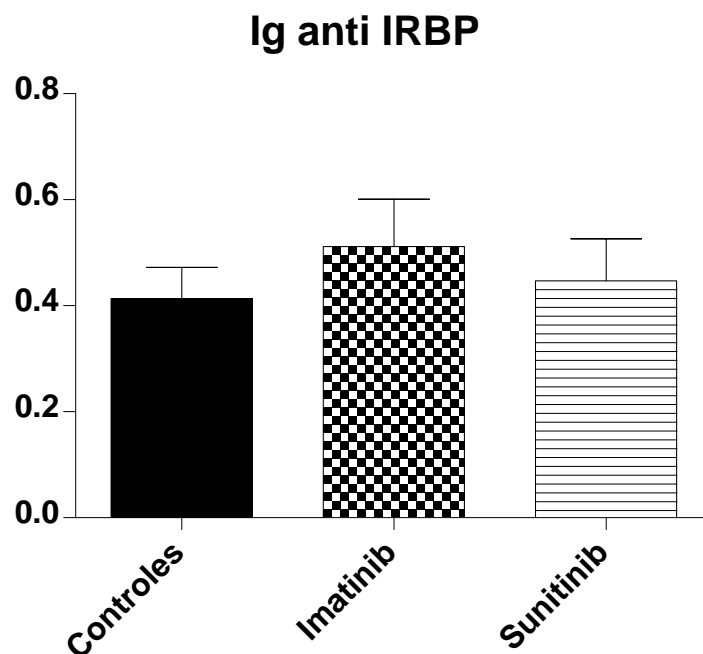


FIGURE 3.11 – Ig G spécifiques anti IRBP

3.5 Analyse du mécanisme d'action du sunitinib

Afin de mieux comprendre les raisons de l'efficacité du sunitinib alors qu'une molécule de la même classe thérapeutique, l'imatinib, ne présentait pas d'efficacité, nous avons essayé de caractériser les tyrosines kinases qui étaient des cibles propres au sunitinib. Nous nous sommes intéressés au *Vascular Endothelial Growth Receptor* de type 2. Ce dernier est une cible particulièrement intéressante pour l'uvéïte postérieure qui est caractérisée par la mise en jeu d'une rupture de la barrière hématorétinienne et qui présente typiquement des foyers de vascularites rétinienne. Le récepteur du VEGF de type 2 présente une forme active phosphorylée que nous avons tenté de caractériser par immunohistochimie. Nous avons également dosé le VEGF présent dans le sérum des souris.

3.5.1 Analyse en immunohistochimie du récepteur du VEGF phosphorylé de type 2

Les coupes d'immunohistochimie ont retrouvé une expression du récepteur du VEGF phosphorylé de type 2 au sein des couches des segments internes des photorécepteurs, dans les couches plexiforme interne et externe ainsi que dans les vaisseaux rétiens, ce qui était comparable à ce qui avait été décrit dans la littérature. Il n'y avait pas de différences significatives entre les lames des différents groupes (Figure 3.12).

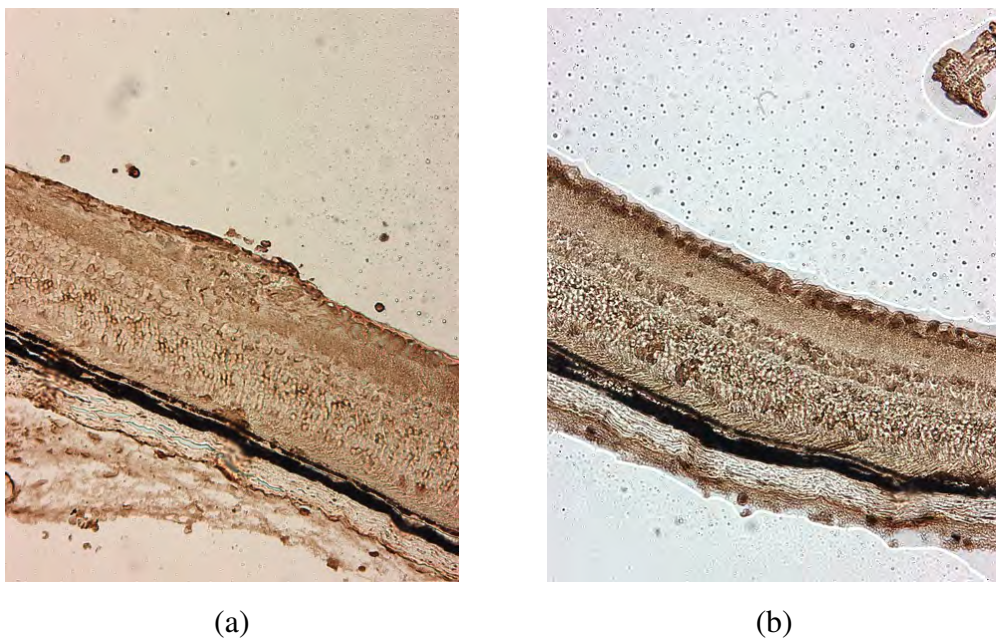


FIGURE 3.12 – Immunohistochimie

Analyse du récepteur du VEGF de type 2 phosphorylé en immunohistochimie sur les coupes de rétine.

(a) Souris du groupe témoin, (b) Souris du groupe Sunitinib.

3.5.2 Dosage sérique du VEGF

Nous avons dosé le VEGF dans les sérums des souris des différents groupes. Nous n'avons pas retrouvé de présence de VEGF en quantité mesurable dans le sérum de nos souris, quelque soit le groupe et le traitement utilisé.

3.5.3 Dosage sérique des nitrites

Les nitrites sont impliqués dans le stress oxydant et ont un rôle majeur dans l'inflammation intra rétinienne et le rupture de la barrière hématorétinienne [55, 56, 57, 58]. Nous avons dosé les nitrites dans les sérums des souris des différents groupes afin de déterminer si l'incidence clinique des uvéites était corrélée au taux de nitrites dans les sérums.

Nous avons retrouvé un taux de nitrites moyen de 3.930 ± 0.21 dans le groupe témoins, et un taux de nitrites moyen de $2.985 (\pm 0.34)$ dans le groupe sunitinib, avec une diminution significative du taux de nitrites entre les groupes témoins et sunitinib ($p=0.04$) (Figure 3.13).

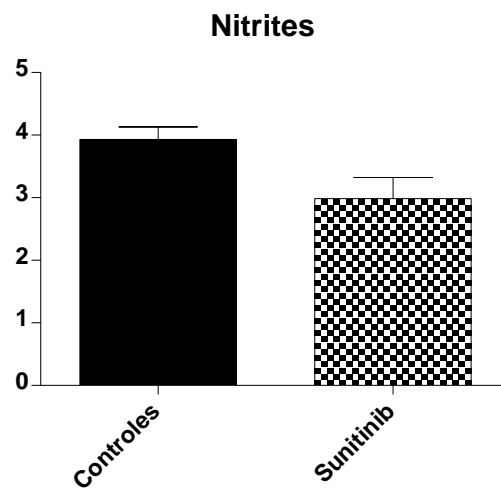


FIGURE 3.13 – Dosage sérique des nitrites

Chapitre 4

Discussion

Dans notre étude nous avons mis en évidence une diminution de l'incidence et de la sévérité de l'uvéite expérimentale autoimmune chez les souris traitées par sunitinib. Cette diminution était corrélée à un score histologique significativement diminué dans ce groupe. Les autres traitements expérimentés n'ont pas mis en évidence d'efficacité significative, avec un score clinique comparable aux contrôles pour le bortezomib, tandis que dans le groupe imatinib nous avons retrouvé un discret retard d'incidence de l'UEA mais un score final comparable au groupe contrôle.

Des études récentes ont mis en évidence l'efficacité du sunitinib dans les modèles animaux de l'asthme et de la cirrhose hépatique, avec dans ces deux maladies une réduction du nombre des infiltrats inflammatoires tissulaires [43, 59]. Plusieurs auteurs ont montré également que le sunitinib était efficace de manière significative dans le traitement du diabète autoimmun dans des modèles animaux comme celui des souris NOD [34, 44], et cette efficacité semble se confirmer chez l'Homme [60, 61].

Il est intéressant de constater que, dans notre étude, le sunitinib seul a montré une efficacité, et non l'imatinib qui est issu de la même famille d'inhibiteurs de tyrosine kinase et qui possède certaines cibles moléculaires communes. Dans le diabète auto-immun, les deux molécules ont montré une efficacité comparable, mais le mécanisme exact mis en jeu n'a pour l'instant pas été élucidé bien que plusieurs pistes aient été évoquées [34].

De nombreux auteurs ont mis en évidence l'implication de la réponse Th17, et notamment de l'IL 17, dans la physiopathologie du diabète autoimmun chez le modèle animal

des souris diabétiques NOD et chez l'Homme [62, 63, 64] De la même manière, la voie Th 17 a été impliquée dans le mécanisme de l'uvéite autoimmune dans le modèle expérimental murin [22, 23, 6, 24, 65], ainsi que chez l'Homme dans les maladies de Behçet, de Vogt Koyanagi Harada, de Birdshot, et au sein d'un panel de patients atteints d'uvéite postérieure [25, 26, 27].

Dans notre étude le sunitinib a montré une efficacité clinique qui semble corrélée à une diminution significative de la réponse Th17. En effet le profil cytokinique des souris du groupe sunitinib a montré une diminution de la réponse Th17, avec une diminution significative de la production d'IL17 par les splénocytes stimulés soit de manière aspécifique par la Concanaline, soit spécifiquement par l'IRBP. Les réponses Th1 et Th2 n'étaient par ailleurs pas modifiées entre les différents groupes. Il est ainsi probable que l'efficacité du sunitinib dans l'UEA constatée cliniquement et histologiquement passe par une diminution de la réponse Th17.

Nous avons également mis en évidence dans le groupe sunitinib une diminution de la réponse des lymphocytes T, que ce soit *in vivo*, avec une diminution de la réponse d'hypersensibilité retardée à l'antigène, ou *in vitro* avec une diminution de la réponse proliférative des lymphocytes T stimulés par l'IRBP.

Dans la littérature, Gu et al. ont retrouvé également une inhibition de la prolifération des lymphocytes T par le sunitinib chez l'Homme [42]. Cette inhibition était réversible après le retrait du traitement et ne semblait pas impliquer une apoptose des cellules T mais un blocage de ces cellules à la fois par une accumulation en phase quiescente du cycle cellulaire, et une inhibition de l'expression des cytokines et des marqueurs d'activation. Celle ci pourrait passer par un blocage de la signalisation de Zap-70 dans les cellules T [42]. De manière similaire, nous n'avons pas mis en évidence dans nos expériences de déplétion des lymphocytes T et la cytométrie en flux a retrouvé des populations cellulaires CD4 et les CD8 comparables entre les différents groupes. Ces données semblent conforter l'hypothèse que le mode d'action du sunitinib n'implique pas une immunosuppression mais une immunomodulation de la réponse.

L' inhibition marquée de l'hypersensibilité retardée à l'antigène (DTH) par le sunitinib retrouvée dans notre étude est comparable à ce qui a été décrit par Gu et al [42], mais contrairement à Dietz et al, nous n'avons pas retrouvé d'inhibition de la DTH par l'imatinib dans nos expériences [39].

Nous n'avons pas mis en évidence de différence dans la réponse humorale des différents groupes, avec une sécrétion similaire d'immunoglobulines spécifiques anti IRBP et une proportion de lymphocytes B comparable au sein des splénocytes. Ce résultat est en adéquation avec le fait que l'UEA est une maladie médiée pas les lymphocytes T et non les B, et qu'il est possible de ne pas retrouver de différence dans la production des immunoglobulines spécifiques [66].

Afin de comprendre les mécanismes de cette immunomodulation de la réponse par le sunitinib nous avons exploré la piste du récepteur du VEGF. En effet l'imatinib et le sunitinib sont deux molécules proches, appartenant à la même famille d'inhibiteur de tyrosine kinase, mais leur cibles sont différentes et seul le sunitinib agit sur le récepteur du VEGF. De plus le VEGF a été impliqué dans la rupture de la barrière hémato rétinienne, qui est un des mécanismes principaux du privilège immunitaire de l'oeil en permettant l'ignorance entre les antigènes rétiens et les cellules immunologiques circulantes [67, 68, 69, 46, 70]. Le VEGF a récemment été incriminé dans la physiopathologie de l'uvéite autoimmune [45, 71, 72, 47, 48]. On décrit 3 isoformes au récepteur du VEGF, toutes trois inhibées par le sunitinib et le plus important semble être le récepteur du VEGF de type 2 [73, 74], dont a forme active est la forme phosphorylée. Nous avons analysé en immunohistochimie les coupes de rétine avec un marquage du récepteur du VEGF de type 2 phosphorylé, mais nous n'avons pas mis en évidence de différence entre les groupes contrôles et sunitinib. Nous avons par ailleurs dosé le VEGF dans les sérums des souris sans mettre en évidence de différence entre les groupes. Nous ne pouvons néanmoins exclure l'hypothèse d'un mécanisme passant par le VEGF car il est possible que d'autre isoformes de ce récepteurs soient mis en jeu par le sunitinib, ou que nous n'ayons pas réussi a mettre en évidence son action sur ce récepteur. D'autres expériences complémentaires pourraient s'avérer utiles pour explorer cette hypothèse, notamment une étude des autres isoformes du récepteur du VEGF, également inhibé par le sunitinib, un dosage du VEGF in situ au niveau oculaire ainsi qu'une étude in situ par Western Blot du récepteur du VEGF phosphorylé.

Nous avons enfin voulu étudier la production de nitrites dans le sérum des souris traitées par sunitinib comparé au groupe contrôle pour déterminer si l'effet du sunitinib dans l'UEA passait par une réduction du stress oxydant. En effet, plusieurs auteurs ont montré que la production intra-oculaire de nitrites était associée aux dommages tissulaires constatés lors de l'uvéite expérimentale autoimmune [75, 56, 76]. Jousset et al ont de plus montré qu'une inhibition du VEGF permettait d'obtenir une diminution de la pro-

duction intra-oculaire de nitrite [77]. Dans notre étude, nous avons mis en évidence une diminution dans la quantité de nitrites au sein des sérum du groupe sunitinib comparé au groupe témoins, ce qui semble indiquer une diminution du stress oxydant corrélée à la moindre incidence des uvéites dans ce groupe. Néanmoins, une étude complémentaire in situ serait nécessaire afin de confirmer ces résultats.

Plusieurs auteurs ont retrouvé chez des patients traités par sunitinib pour un cancer du rein, une diminution de la réponse Th2, et une augmentation de la réponse Th1 associée à un meilleur pronostic dans ce cancer où la réponse Th2 est pathogène [78]. Ce qui fait du sunitinib un traitement particulièrement adapté au cancer du rein, en permettant une modulation de la réponse immune vers une voie Th1 de meilleure pronostic, semble contradictoire avec son efficacité dans plusieurs maladies autoimmunes où la voie Th1 est pathogène. Ainsi, dans le diabète autoimmun, la réponse Th1 est considérée comme responsable de l'inflammation et de la destruction des îlots de Langerhans du pancréas [79, 80, 81, 82, 83, 84, 85]. De la même manière la voie Th1 est pathogène dans l'uvéite autoimmune avec la sécrétion de cytokines proinflammatoires comme l'IFN- γ [15, 86, 87]. Pourtant le sunitinib semble efficace dans le traitement du diabète autoimmun et nos expériences ont retrouvé une nette diminution de l'incidence et de la sévérité des uvéites autoimmunes sous ce traitement. Cette contradiction pourrait s'expliquer par la mise en jeu d'une inhibition de la voie Th17 également pathogène dans l'uvéite autoimmune et le diabète autoimmun. En effet dans notre étude, nous avons trouvé une inhibition significative de la réponse Th17 avec une inhibition de la sécrétion de l'IL17 par les splénocytes, qui pourrait expliquer l'efficacité du sunitinib à la fois clinique et histologique.

Dans l'uvéite autoimmune, les deux voies Th1 et Th17 sont pathogènes mais certaines études ont montré une importance plus grande de la voie Th17 par rapport à la voie Th1 dans l'uvéite autoimmune expérimentale ainsi que chez des patients atteints d'uvéite postérieure [88, 27]. Il semble qu'il existerait une hétérogénéité de signature immunologique dans l'uvéite autoimmune avec, pour une même maladie, certains patients présentant une réponse pathogène principalement Th1 et d'autre une réponse centrée sur la voie Th17 [89, 27]. Le choix entre ces deux réponses pourraient s'établir très tôt au moment où la réaction contre l'antigène rétinien s'est installée et pourrait expliquer la grande hétérogénéité clinique de ces pathologies [22, 24].

Plusieurs autres pistes seraient à évoquer pour essayer de comprendre le mécanisme d'action du sunitinib dans la prévention de l'uvéite autoimmune, notamment celle de la protéine Zap 70, cible du sunitinib et non de l'imatinib, et qui semble expliquer l'inhibition de la prolifération des lymphocytes T chez l'Homme [42], ou celle du récepteur du PDGF qui pourrait être la kinase mise en jeu dans son action dans le diabète [34, 61].

Enfin, compte tenu des résultats prometteurs du sunitinib, d'autres inhibiteurs de tyrosine kinase pourraient être étudiés dans l'uvéite autoimmune, notamment le sorafenib, qui partage plusieurs cibles avec le sunitinib, en particulier le récepteur du VEGF et le récepteur du PDGF, et dont les propriétés immunologiques pourraient s'avérer particulièrement intéressantes dans le traitements des maladies autoimmunes, avec une capacité à inhiber à la fois les cellules dendritiques et les lymphocytes T permettant une inhibition profonde de l'induction des lymphocytes T autoréactifs[90, 91].

Chapitre 5

Conclusion

L'uvéite autoimmune est une maladie causée essentiellement par la réaction pathologique des lymphocytes T CD4 contre le soi. Ces lymphocytes sont vraisemblablement activés contre des antigènes rétiniens, à la faveur d'un facteur déclenchant qui pourrait être une infection oculaire, et la chronicité de l'uvéite est liée à une activation continue de ces lymphocytes contre des antigènes libérés au fur et à mesure que les dommages tissulaires se poursuivent. Les traitements principaux de l'uvéite autoimmune ciblent les lymphocytes T, comme la ciclosporine (et la rapamycine , ou leur cytokines comme les anti TNF. Compte tenu du rôle central de la voie Th17 dans la physiopathologie de l'uvéite autoimmune, de nombreux essais cliniques tentent actuellement de cibler une inhibition de la réponse Th17, notamment avec des inhibiteurs anti IL17 ou anti IL23, et les premiers résultats de ces essais chez l'Homme seront prochainement disponibles.

Les inhibiteurs de tyrosine kinase ont montré des propriétés immunomodulatrices favorables dans le traitement de nombreux cancers, et leur utilisation semble pouvoir s'étendre à certaines maladies autoimmunes comme le diabète, bien que leur mécanisme d'action ne soit toujours pas caractérisé de manière précise.

Dans notre étude, nous avons démontré l'efficacité du sunitinib dans la prévention de l'uvéite autoimmune expérimentale, à la fois sur les plans clinique et histologique. Cette efficacité semble être liée à une immunomodulation de la réponse immunitaire avec une diminution de la réponse Th17, ainsi qu'une inhibition de la prolifération et de l'activation des lymphocytes T. Il reste à déterminer par quel mécanisme le sunitinib agit, en

particulier quelle est la tyrosine kinase spécifiquement mise en jeu dans la modulation de la réponse à l'induction de l'uvéite.

A notre connaissance il s'agit du premier rapport d'une efficacité d'un inhibiteur de tyrosine kinase dans la prévention de l'uvéite autoimmune. Après avoir révolutionné le traitement de nombreuses tumeurs, le sunitinib a étendu ses application avec succès aux maladies autoimmunes, et semble être une piste particulièrement intéressante dans le traitement de l'uvéite expérimentale autoimmune.

Bibliographie

- [1] A. BRÉZIN : *Les Uvéites*. Société Française d'Ophtalmologie, 2010.
- [2] R. R. CASPI : Immunogenetic aspects of clinical and experimental uveitis. *Reg Immunol*, 4(5):321–330, 1992.
- [3] J. W. STREILEIN : Ocular immune privilege : therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nat Rev Immunol*, 3(11):879–889, Nov 2003.
- [4] R. R. CASPI : Regulation, counter-regulation, and immunotherapy of autoimmune responses to immunologically privileged retinal antigens. *Immunol Res*, 27(2-3): 149–160, 2003.
- [5] R. R. CASPI : Ocular autoimmunity : the price of privilege ? *Immunol Rev*, 213:23–35, Oct 2006.
- [6] R. CASPI : Autoimmunity in the immune privileged eye : pathogenic and regulatory T cells. *Immunol Res*, 42(1-3):41–50, 2008.
- [7] R. R. CASPI, F. G. ROBERGE, C. C. CHAN, B. WIGGERT, G. J. CHADER, L. A. ROZENSZAJN, Z. LANDO et R. B. NUSSENBLATT : A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J Immunol*, 140(5):1490–1495, Mar 1988.
- [8] D. E. BORST, T. M. REDMOND, J. E. ELSER, M. A. GONDA, B. WIGGERT, G. J. CHADER et J. M. NICKERSON : Interphotoreceptor retinoid-binding protein. Gene characterization, protein repeat structure, and its evolution. *J Biol Chem*, 264(2): 1115–1123, Jan 1989.
- [9] R. R. CASPI : Experimental autoimmune uveoretinitis in the rat and mouse. *Curr Protoc Immunol*, Chapter 15:Unit 15.6, May 2003.
- [10] R. K. AGARWAL et R. R. CASPI : Rodent models of experimental autoimmune uveitis. *Methods Mol Med*, 102:395–419, 2004.

- [11] R. R. CASPI : A look at autoimmunity and inflammation in the eye. *J Clin Invest*, 120(9):3073–3083, Sep 2010.
- [12] R. R. CASPI, B. SUN, R. K. AGARWAL, P. B. SILVER, L. V. RIZZO, C. C. CHAN, B. WIGGERT et R. L. WILDER : T cell mechanisms in experimental autoimmune uveoretinitis : susceptibility is a function of the cytokine response profile. *Eye (Lond)*, 11 (Pt 2):209–212, 1997.
- [13] H. XU, L. V. RIZZO, P. B. SILVER et R. R. CASPI : Uveitogenicity is associated with a Th1-like lymphokine profile : cytokine-dependent modulation of early and committed effector T cells in experimental autoimmune uveitis. *Cell Immunol*, 178(1):69–78, May 1997.
- [14] B. SUN, S. H. SUN, C. C. CHAN, B. WIGGERT et R. R. CASPI : Autoimmunity to a pathogenic retinal antigen begins as a balanced cytokine response that polarizes towards type 1 in a disease-susceptible and towards type 2 in a disease-resistant genotype. *Int Immunol*, 11(8):1307–1312, Aug 1999.
- [15] R. R. CASPI : Th1 and Th2 responses in pathogenesis and regulation of experimental autoimmune uveoretinitis. *Int Rev Immunol*, 21(2-3):197–208, 2002.
- [16] L. S. JONES, L. V. RIZZO, R. K. AGARWAL, T. K. TARRANT, C. C. CHAN, B. WIGGERT et R. R. CASPI : IFN-gamma-deficient mice develop experimental autoimmune uveitis in the context of a deviant effector response. *J Immunol*, 158(12):5997–6005, Jun 1997.
- [17] S. B. SU, R. S. GRAJEWSKI, D. LUGER, R. K. AGARWAL, P. B. SILVER, J. TANG, J. TUO, C.-C. CHAN et R. R. CASPI : Altered chemokine profile associated with exacerbated autoimmune pathology under conditions of genetic interferon-gamma deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48(10):4616–4625, Oct 2007.
- [18] K. KIKLY, L. LIU, S. NA et J. D. SEDGWICK : The IL-23/Th(17) axis : therapeutic targets for autoimmune inflammation. *Curr Opin Immunol*, 18(6):670–675, Dec 2006.
- [19] V. S. COSTA, T. C. C. MATTANA et M. E. R. da SILVA : Unregulated IL-23/IL-17 immune response in autoimmune diseases. *Diabetes Res Clin Pract*, 88(3):222–226, Jun 2010.
- [20] J. C. CRISPÍN et G. C. TSOKOS : Interleukin-17-producing T cells in lupus. *Curr Opin Rheumatol*, 22(5):499–503, Sep 2010.
- [21] M. A. MUNEGOWDA, Y. DENG, R. CHIBBAR, Q. XU, A. FREYWALD, S. J. MULLIGAN, S. van Drunen Littel-van den HURK, D. SUN, S. XIONG et J. XIANG : A

- Distinct Role of CD4(+) Th17- and Th17-Stimulated CD8(+) CTL in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes and Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Clin Immunol*, Jun 2011.
- [22] D. LUGER, P. B. SILVER, J. TANG, D. CUA, Z. CHEN, Y. IWAKURA, E. P. BOWMAN, N. M. SGAMBELLONE, C.-C. CHAN et R. R. CASPI : Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity : conditions of disease induction affect dominant effector category. *J Exp Med*, 205(4):799–810, Apr 2008.
- [23] L. WANG, C.-R. YU, H.-P. KIM, W. LIAO, W. G. TELFORD, C. E. EGWUAGU et W. J. LEONARD : Key role for IL-21 in experimental autoimmune uveitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(23):9542–9547, Jun 2011.
- [24] D. LUGER et R. R. CASPI : New perspectives on effector mechanisms in uveitis. *Semin Immunopathol*, 30(2):135–143, Apr 2008.
- [25] W. CHI, X. ZHU, P. YANG, X. LIU, X. LIN, H. ZHOU, X. HUANG et A. KIJLSTRA : Upregulated IL-23 and IL-17 in Behçet patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 49(7):3058–3064, Jul 2008.
- [26] S. JIANG, X. LIU, L. LUO, B. QU, X. HUANG, L. XU, Y. LIN, S. YE et Y. LIU : Elevated serum IL-23 correlates with intraocular inflammation after cataract surgery in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol*, 94(8):1078–1082, Aug 2010.
- [27] J. J. W. KUIPER, T. MUTIS, W. de JAGER, J. D. F. de GROOT-MIJNES et A. ROTHOVA : Intraocular Interleukin-17 and Proinflammatory Cytokines in HLA-A29-Associated Birdshot Chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol*, May 2011.
- [28] P. P. SFIKAKIS, P. G. THEODOSSIADIS, C. G. KATSIARI, P. KAKLAMANIS et N. N. MARKOMICHELAKIS : Effect of infliximab on sight-threatening panuveitis in Behçet's disease. *Lancet*, 358(9278):295–296, Jul 2001.
- [29] M. C. AVUNDUK, A. M. AVUNDUK, E. OZTEKIN, A. K. BALTACI, Y. OZYAZGAN et R. MOGOLKOC : Etanercept treatment in the endotoxin-induced uveitis of rats. *Exp Eye Res*, 79(3):357–365, Sep 2004.
- [30] C. C. MURPHY, K. GREINER, J. PLSKOVA, L. DUNCAN, A. FROST, J. D. ISAACS, P. REBELLO, H. WALDMANN, G. HALE, J. V. FORRESTER et A. D. DICK : Neutralizing tumor necrosis factor activity leads to remission in patients with refractory noninfectious posterior uveitis. *Arch Ophthalmol*, 122(6):845–851, Jun 2004.
- [31] H. KANTARJIAN, C. SAWYERS, A. HOCHHAUS, F. GUILHOT, C. SCHIFFER, C. GAMBACORTI-PASSERINI, D. NIEDERWIESER, D. RESTA, R. CAPDEVILLE,

- U. ZOELLNER, M. TALPAZ, B. DRUKER, J. GOLDMAN, S. G. O'BRIEN, N. RUSSELL, T. FISCHER, O. OTTMANN, P. CONY-MAKHOUL, T. FACON, R. STONE, C. MILLER, M. TALLMAN, R. BROWN, M. SCHUSTER, T. LOUGHRAN, A. GRATWOHL, F. MANDELLI, G. SAGLIO, M. LAZZARINO, D. RUSSO, M. BACCARANI, E. MORRA et I. S. C. S. GROUP : Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med*, 346(9):645–652, Feb 2002.
- [32] R. J. MOTZER, T. E. HUTSON, P. TOMCZAK, M. D. MICHAELSON, R. M. BUKOWSKI, O. RIXE, S. OUDARD, S. NEGRIER, C. SZCZYLIK, S. T. KIM, I. CHEN, P. W. BYCOTT, C. M. BAUM et R. A. FIGLIN : Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*, 356(2):115–124, Jan 2007.
- [33] A. HEINE, S. A. E. HELD, A. BRINGMANN, T. A. W. HOLDERRIED et P. BROSART : Immunomodulatory effects of anti-angiogenic drugs. *Leukemia*, 25(6):899–905, Jun 2011.
- [34] C. LOUVET, G. L. SZOT, J. LANG, M. R. LEE, N. MARTINIER, G. BOLLAG, S. ZHU, A. WEISS et J. A. BLUESTONE : Tyrosine kinase inhibitors reverse type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(48):18895–18900, Dec 2008.
- [35] W. ANDO, J. HASHIMOTO, A. NAMPEI, H. TSUBOI, K. TATEISHI, T. ONO, N. NAKAMURA, T. OCHI et H. YOSHIKAWA : Imatinib mesylate inhibits osteoclastogenesis and joint destruction in rats with collagen-induced arthritis (cia). *J Bone Miner Metab*, 24(4):274–282, 2006.
- [36] K. K. EKLUND, A. REMITZ, H. KAUTIAINEN, S. REITAMO et M. LEIRISALO-REPO : Three months treatment of active spondyloarthritis with imatinib mesylate : an open-label pilot study with six patients. *Rheumatology (Oxford)*, 45(12):1573–1575, Dec 2006.
- [37] K. KOYAMA, K. HATSUSHIKA, T. ANDO, M. SAKUMA, M. WAKO, R. KATO, H. HARO, H. SUGIYAMA, Y. HAMADA, H. OGAWA et A. NAKAO : Imatinib mesylate both prevents and treats the arthritis induced by type ii collagen antibody in mice. *Mod Rheumatol*, 17(4):306–310, 2007.
- [38] R. T. PANIAGUA, O. SHARPE, P. P. HO, S. M. CHAN, A. CHANG, J. P. HIGGINS, B. H. TOMOOKA, F. M. THOMAS, J. J. SONG, S. B. GOODMAN, D. M. LEE, M. C. GENOVESE, P. J. UTZ, L. STEINMAN et W. H. ROBINSON : Selective tyrosine kinase inhibition by imatinib mesylate for the treatment of autoimmune arthritis. *J Clin Invest*, 116(10):2633–2642, Oct 2006.

- [39] A. B. DIETZ, L. SOUAN, G. J. KNUTSON, P. A. BULUR, M. R. LITZOW et S. VUK-PAVLOVIC : Imatinib mesylate inhibits T-cell proliferation in vitro and delayed-type hypersensitivity in vivo. *Blood*, 104(4):1094–1099, Aug 2004.
- [40] A. M. WOLF, D. WOLF, H. RUMPOLD, S. LUDWICZEK, B. ENRICH, G. GASTL, G. WEISS et H. TILG : The kinase inhibitor imatinib mesylate inhibits TNF-alpha production in vitro and prevents TNF-dependent acute hepatic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(38):13622–13627, Sep 2005.
- [41] E. CABEBE et H. WAKELEE : Sunitinib : a newly approved small-molecule inhibitor of angiogenesis. *Drugs of today (Barcelona, Spain : 1998)*, 42(6):387–98, 09 2006.
- [42] Y. GU, W. ZHAO, F. MENG, B. QU, X. ZHU, Y. SUN, Y. SHU et Q. XU : Sunitinib impairs the proliferation and function of human peripheral T cell and prevents T-cell-mediated immune response in mice. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 135(1): 55–62, 04 2010.
- [43] M. HUANG, X. LIU, Q. DU, X. YAO et K. sheng YIN : Inhibitory effects of sunitinib on ovalbumin-induced chronic experimental asthma in mice. *Chin Med J (Engl)*, 122(9):1061–1066, May 2009.
- [44] D. MOKHTARI et N. WELSH : Potential utility of small tyrosine kinase inhibitors in the treatment of diabetes. *Clinical science (London, England : 1979)*, 118(4):241–7, 03 2010.
- [45] J. D. LUNA, C. C. CHAN, N. L. DEREVJANIK, J. MAHLOW, C. CHIU, B. PENG, T. TOBE, P. A. CAMPOCHIARO et S. A. VINOES : Blood-retinal barrier (BRB) breakdown in experimental autoimmune uveoretinitis : comparison with vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-1beta-mediated breakdown. *Journal of neuroscience research*, 49(3):268–80, 09 1997.
- [46] J. L. EDELMAN, D. LUTZ et M. R. CASTRO : Corticosteroids inhibit VEGF-induced vascular leakage in a rabbit model of blood-retinal and blood-aqueous barrier breakdown. *Experimental eye research*, 80(2):249–58, 03 2005.
- [47] N. GULATI, F. FOROOGHIAN, R. LIEBERMAN et D. A. JABS : Vascular endothelial growth factor inhibition in uveitis : a systematic review. *The British journal of ophthalmology*, 95(2):162–5, 03 2011.
- [48] M. KAMOUN, M. H. HOUMAN, A. HAMZAOUI et K. HAMZAOUI : Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and serum levels in Behcet's disease. *Tissue antigens*, 72(6):581–7, 08 2009.

- [49] S. KASE, K. AOKI, T. HARADA, C. HARADA, K. OHGAMI, K. SHIRATORI, S. NISHI, S. OHNO et K. YOSHIDA : Activation of nuclear factor-kappa b in the conjunctiva with the epithelial scraping of the mouse cornea and human epidemic keratoconjunctivitis. *Br J Ophthalmol*, 88(7):947–949, Jul 2004.
- [50] S.-W. LEE, J.-H. KIM, Y.-B. PARK et S.-K. LEE : Bortezomib attenuates murine collagen-induced arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 68(11):1761–7, 11 2009.
- [51] B. BLANCO, J. A. PÉREZ-SIMÓN, L. I. SÁNCHEZ-ABARCA, X. CARVAJAL-VERGARA, J. MATEOS, B. VIDRIALES, N. LÓPEZ-HOLGADO, P. MAISO, M. ALBERCA, E. VILLARÓN, D. SCHENKEIN, A. PANDIELLA et J. S. MIGUEL : Bortezomib induces selective depletion of alloreactive t lymphocytes and decreases the production of th1 cytokines. *Blood*, 107(9):3575–3583, May 2006.
- [52] Y. YAMAMOTO et R. B. GAYNOR : Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest*, 107(2): 135–142, Jan 2001.
- [53] P. J. ELLIOTT, T. M. ZOLLNER et W.-H. BOEHNCKE : Proteasome inhibition : a new anti-inflammatory strategy. *J Mol Med*, 81(4):235–245, Apr 2003.
- [54] D. IWATA, N. KITAICHI, A. MIYAZAKI, K. IWABUCHI, K. YOSHIDA, K. NAMBA, M. OZAKI, S. OHNO, K. UMEZAWA, K. YAMASHITA, S. TODO, S. ISHIDA et K. ONOÉ : Amelioration of experimental autoimmune uveoretinitis with nuclear factor-kappaB Inhibitor dehydroxy methyl epoxyquinomicin in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 51(4):2077–2084, Apr 2010.
- [55] N. A. RAO : Role of oxygen free radicals in retinal damage associated with experimental uveitis. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 88:797–850, 1990.
- [56] G. S. WU, J. ZHANG et N. A. RAO : Peroxynitrite and oxidative damage in experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 38(7):1333–1339, Jun 1997.
- [57] S. E. OHIA, C. A. OPERE et A. M. LEDAY : Pharmacological consequences of oxidative stress in ocular tissues. *Mutat Res*, 579(1-2):22–36, Nov 2005.
- [58] A. ISIK, S. S. KOCA, B. USTUNDAG et S. SELEK : Decreased total antioxidant response and increased oxidative stress in Behcet's disease. *Tohoku J Exp Med*, 212(2):133–141, Jun 2007.
- [59] S. TUGUES, G. FERNANDEZ-VARO, J. MUÑOZ-LUQUE, J. ROS, V. ARROYO, J. RODÉS, S. L. FRIEDMAN, P. CARMELIET, W. JIMÉNEZ et M. MORALES-RUIZ :

- Antiangiogenic treatment with sunitinib ameliorates inflammatory infiltrate, fibrosis, and portal pressure in cirrhotic rats. *Hepatology*, 46(6):1919–1926, Dec 2007.
- [60] A. TEMPLETON, M. BRÄNDLE, T. CERNY et S. GILLESSEN : Remission of diabetes while on sunitinib treatment for renal cell carcinoma. *Ann Oncol*, 19(4):824–825, Apr 2008.
- [61] N. AGOSTINO, V. M. CHINCHILLI, C. J. LYNCH, A. KOSZYK-SZEWCZYK, R. GINGRICH, J. SIVIK et J. J. DRABICK : Effect of the tyrosine kinase inhibitors (sunitinib, sorafenib, dasatinib, and imatinib) on blood glucose levels in diabetic and nondiabetic patients in general clinical practice. *J Oncol Pharm Pract*, Aug 2010.
- [62] J. A. EMAMAULLEE, J. DAVIS, S. MERANI, C. TOSO, J. F. ELLIOTT, A. THIESEN et A. M. J. SHAPIRO : Inhibition of Th17 cells regulates autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes*, 58(6):1302–1311, Jun 2009.
- [63] E. M. BRADSHAW, K. RADDASSI, W. ELYAMAN, T. ORBAN, P. A. GOTTLIEB, S. C. KENT et D. A. HAFLER : Monocytes from patients with type 1 diabetes spontaneously secrete proinflammatory cytokines inducing Th17 cells. *J Immunol*, 183(7):4432–4439, Oct 2009.
- [64] J. HONKANEN, J. K. NIEMINEN, R. GAO, K. LUOPAJARVI, H. M. SALO, J. ILO-NEN, M. KNIP, T. OTONKOSKI et O. VAARALA : IL-17 immunity in human type 1 diabetes. *J Immunol*, 185(3):1959–1967, Aug 2010.
- [65] Y. PENG, G. HAN, H. SHAO, Y. WANG, H. J. KAPLAN et D. SUN : Characterization of il-17+ interphotoreceptor retinoid-binding protein-specific t cells in experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48(9):4153–4161, Sep 2007.
- [66] R. HOEKZEMA, S. B. HWAN, A. ROTHOVA, M. A. van HAREN, L. A. DONOSO et A. KIJLSTRA : Serum antibody response to human and bovine IRBP in uveitis. *Curr Eye Res*, 9(12):1177–1183, Dec 1990.
- [67] D. A. ANTONETTI, A. J. BARBER, S. KHIN, E. LIETH, J. M. TARBELL et T. W. GARDNER : Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occludin content : vascular endothelial growth factor decreases occludin in retinal endothelial cells. Penn State Retina Research Group. *Diabetes*, 47(12):1953–9, 12 1998.
- [68] X. ZHONG, H. HUANG, J. SHEN, S. ZACCHIGNA, L. ZENTILIN, M. GIACCA et S. A. VINOES : Vascular endothelial growth factor-B gene transfer exacerbates retinal and choroidal neovascularization and vasopermeability without promoting inflammation. *Molecular vision*, 17:492–507, 06 2011.

- [69] J. PENN, A. MADAN, R. CALDWELL, M. BARTOLI, R. CALDWELL et M. HARTNETT : Vascular endothelial growth factor in eye disease. *Progress in Retinal and Eye Research*, 27:331–371, 2008.
- [70] A. B. EL-REMESSY, M. A. BEHZADIAN, G. ABOU-MOHAMED, T. FRANKLIN, R. W. CALDWELL et R. B. CALDWELL : Experimental diabetes causes breakdown of the blood-retina barrier by a mechanism involving tyrosine nitration and increases in expression of vascular endothelial growth factor and urokinase plasminogen activator receptor. *The American journal of pathology*, 162(6):1995–2004, 07 2003.
- [71] M. CEKMEK, C. EVEREKLIOGLU, H. ER, H. S. INALOZ, S. DOGANAY, Y. TURKOZ et I. H. OZEROL : Vascular endothelial growth factor levels are increased and associated with disease activity in patients with Behcet's syndrome. *International journal of dermatology*, 42(11):870–5, 04 2004.
- [72] H. F. FINE, J. BAFFI, G. F. REED, K. G. CSAKY et R. B. NUSSENBLATT : Aqueous humor and plasma vascular endothelial growth factor in uveitis-associated cystoid macular edema. *American journal of ophthalmology*, 132(5):794–6, 12 2001.
- [73] J. C. TILLE, J. WOOD, S. J. MANDRIOTA, C. SCHNELL, S. FERRARI, J. MESTAN, Z. ZHU, L. WITTE et M. S. PEPPER : Vascular endothelial growth factor (vegf) receptor-2 antagonists inhibit vegf- and basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis in vivo and in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*, 299(3):1073–1085, Dec 2001.
- [74] J. H. KIM, J. H. KIM, Y. M. LEE, E.-M. AHN, K.-W. KIM et Y. S. YU : Decursin inhibits VEGF-mediated inner blood-retinal barrier breakdown by suppression of VEGFR-2 activation. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 29(9):1559–67, 09 2009.
- [75] N. A. RAO : Role of oxygen free radicals in retinal damage associated with experimental uveitis. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 88:797–850, 1990.
- [76] D. J. PARKS, M. K. CHEUNG, C. C. CHAN et F. G. ROBERGE : The role of nitric oxide in uveitis. *Arch Ophthalmol*, 112(4):544–546, Apr 1994.
- [77] A. M. JOUSSEN, V. POULAKI, W. QIN, B. KIRCHHOF, N. MITSIADES, S. J. WIEGAND, J. RUDGE, G. D. YANCOPOULOS et A. P. ADAMIS : Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion in vivo. *Am J Pathol*, 160(2):501–509, Feb 2002.

- [78] J. H. FINKE, B. RINI, J. IRELAND, P. RAYMAN, A. RICHMOND, A. GOLSHAYAN, L. WOOD, P. ELSON, J. GARCIA, R. DREICER et R. BUKOWSKI : Sunitinib reverses type-1 immune suppression and decreases T-regulatory cells in renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res*, 14(20):6674–6682, Oct 2008.
- [79] J. D. KATZ, C. BENOIST et D. MATHIS : T helper cell subsets in insulin-dependent diabetes. *Science*, 268(5214):1185–1188, May 1995.
- [80] L. M. BRADLEY, V. C. ASENSIO, L. K. SCHIOETZ, J. HARBERTSON, T. KRAHL, G. PATSTONE, N. WOOLF, I. L. CAMPBELL et N. SARVETNICK : Islet-specific Th1, but not Th2, cells secrete multiple chemokines and promote rapid induction of autoimmune diabetes. *J Immunol*, 162(5):2511–2520, Mar 1999.
- [81] M. G. KARLSSON, S. S. LAWESSON et J. LUDVIGSSON : Th1-like dominance in high-risk first-degree relatives of type I diabetic patients. *Diabetologia*, 43(6):742–749, Jun 2000.
- [82] S. ARIF, T. I. TREE, T. P. ASTILL, J. M. TREMBLE, A. J. BISHOP, C. M. DAYAN, B. O. ROEP et M. PEAKMAN : Autoreactive T cell responses show proinflammatory polarization in diabetes but a regulatory phenotype in health. *J Clin Invest*, 113(3): 451–463, Feb 2004.
- [83] J.-T. HUNG, J.-H. LIAO, Y.-C. LIN, H.-Y. CHANG, S.-F. WU, T.-H. CHANG, J. T. KUNG, S.-L. HSIEH, H. MCDEVITT et H.-K. SYTWU : Immunopathogenic role of TH1 cells in autoimmune diabetes : evidence from a T1 and T2 doubly transgenic non-obese diabetic mouse model. *J Autoimmun*, 25(3):181–192, Nov 2005.
- [84] J. CANTOR et K. HASKINS : Effector function of diabetogenic CD4 Th1 T cell clones : a central role for TNF-alpha. *J Immunol*, 175(11):7738–7745, Dec 2005.
- [85] A. CHATZIGEORGIOU, V. HAROKOPOS, C. MYLONA-KARAGIANNI, E. TSOUVALAS, V. AIDINIS et E. F. KAMPER : The pattern of inflammatory/anti-inflammatory cytokines and chemokines in type 1 diabetic patients over time. *Ann Med*, 42(6): 426–438, Sep 2010.
- [86] R. R. CASPI, P. B. SILVER, D. LUGER, J. TANG, L. M. CORTES, G. PENNESI, M. J. MATTAPALLIL et C.-C. CHAN : Mouse models of experimental autoimmune uveitis. *Ophthalmic Res*, 40(3-4):169–174, 2008.
- [87] R. R. CASPI : Understanding autoimmune uveitis through animal models. The Friedenwald Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52(3):1872–1879, Mar 2011.

-
- [88] J. KIM, J. A. PARK, E. Y. LEE, Y. J. LEE, Y. W. SONG et E. B. LEE : Imbalance of Th17 to Th1 cells in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*, 28(4 Suppl 60):S16–S19, 2010.
- [89] D. MONNET, F. BATTEUX et A. P. BRÉZIN : Assessment of Th17 Cells In The Pathophysiology of Birdshot Chorioretinopathy.
- [90] M. M. HIPPEL, N. HILF, S. WALTER, D. WERTH, K. M. BRAUER, M. P. RADSACK, T. WEINSCHENK, H. SINGH-JASUJA et P. BROSSART : Sorafenib, but not sunitinib, affects function of dendritic cells and induction of primary immune responses. *Blood*, 111(12):5610–5620, Jun 2008.
- [91] K. J. GOTINK et H. M. W. VERHEUL : Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors : what is their mechanism of action ? *Angiogenesis*, 13(1):1–14, 08 2010.

Table des figures

1.1	Mécanismes du privilège immunitaire de l'oeil	28
1.2	Comparaison de l'uvéite postérieure humaine et de l'uvéite expérimentale auto-immune murine (d'après Rachel Caspi,[11]).	30
1.3	Rôle des lymphocytes CD4 dans l'uvéite auto-immune	31
2.1	Dispositif d'examen du fond d'oeil : Lampe à fente photos couplée à une caméra numérique	38
2.2	Dilatation des pupilles et disposition de la souris sur le portoir ajustable de la lampe à fente	39
3.1	Photographies du fond d'oeil de souris atteintes du groupe témoin Les lésions les plus fréquemment retrouvées étaient des vascularites rétinienne et des foyers rétinien, focaux ou linéaires, à prédominance péri-papillaires.	47
3.2	Résultats cliniques Score clinique de J0 à J23 (quoté selon le score clinique de Whitcup et coll.)	48
3.3	Résultats cliniques Comparaison des scores cliniques lors du dernier examen du fond d'oeil à J23. Seule la différence entre les groupes sunitinib et contrôles est significative, p=0.02).	48
3.4	Score histopathologique	49
3.5	Coupes histologiques.	50
3.6	Hypersensibilité retardée spécifique de l'IRBP	51
3.7	Prolifération des lymphocytes spécifique de l'antigène IRBP	52
3.8	Production des cytokines IL 17, IL4 et IFN- γ par les splénocytes en présence d'IRBP	53
3.9	Caractéristiques phénotypiques des lymphocytes T spléniques	55

3.10 Lymphocytes B	55
3.11 Ig G spécifiques anti IRBP	56
3.12 Immunohistochimie	57
3.13 Dosage sérique des nitrites	58

Liste des tableaux

2.1	Score clinique (Basé sur le score de Whitcup et coll.)	37
2.2	Score histologique (Basé sur le score de Caspi et coll.)	41
3.1	Résultats cliniques : Incidence de l'uvéite à J16, J20 et J23 après l'immu- nisation.	46

VU

NANCY, le 1^{er} juillet 2011
Le Président de Thèse

NANCY, le 1^{er} juillet 2011
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur J.P. BERROD

Professeur H. COUDANE

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/3659

NANCY, le 5 juillet 2011

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1
Par délégation

Madame C. CAPDEVILLE-ATKINSON

Nouvelles Approches Thérapeutiques dans l'Uvéite Autoimmune Expérimentale

New Therapeutic Approaches for Experimental Autoimmune Uveitis

Narjisse Myriam Feraoun

INTRODUCTION : L'uvéite autoimmune est une maladie sévère, responsable de 10% des cécités acquises de l'adulte. Les traitements cortisonés ou immunosuppresseurs classiques présentent des effets secondaires lourds ce qui a amené à rechercher des alternatives plus ciblées, privilégiant une immunomodulation de la réponse sans immunosuppression.

BUT : Le bortezomib, l'imatinib et le sunitinib sont des pistes intéressantes dans le traitement des uvéites autoimmunes, de part leur mode d'action et leurs propriétés anti inflammatoires. Nous avons souhaité explorer les possibilités thérapeutiques de ces trois molécules dans l'uvéite autoimmune expérimentale.

MÉTHODE : Nous avons induit une uvéite en immunisant avec la protéine IRBP des souris susceptibles C57BL/6, et nous les avons traitées à l'aide soit de sunitinib, soit d'imatinib, ou soit de bortezomib, afin de comparer l'incidence et la sévérité des uvéites en fonction du traitement utilisé.

RÉSULTATS : Nous avons pu mettre en évidence l'efficacité du sunitinib dans la prévention de l'uvéite autoimmune expérimentale, à la fois sur les plans clinique et histologique. Cette efficacité semblait être liée à une immunomodulation de la réponse immunitaire avec une diminution de la réponse Th17, ainsi qu'une inhibition de la prolifération et de l'activation des lymphocytes T.

CONCLUSION : À notre connaissance il s'agit du premier rapport d'une efficacité d'un inhibiteur de tyrosine kinase dans la prévention de l'uvéite autoimmune. Les inhibiteurs de tyrosine kinase, et en particulier le sunitinib, semblent être une piste potentiellement intéressante dans le traitement de l'uvéite expérimentale autoimmune.