

Avis de Soutenance

Madame Julie MAZENQ

RECHERCHES BIOMEDICALES Pathologies cardio-vasculaires, nutrition et inflammation

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Étude e-PIBO : Étude pilote morphologique et fonctionnelle de l'épithélium bronchique des enfants présentant une bronchiolite oblitérante post infectieuse

Travaux dirigés par Monsieur Pascal CHANEZ

Soutenance prévue le **vendredi 30 octobre 2026** à 14h00

Lieu : Faculté SMPM 27 boulevard Jean Moulin 13005 Marseille

Salle : de thèse 1

Composition du jury proposé

M. Pascal CHANEZ	Professeur des universités - praticien hospitalier	Aix Marseille Université - AP-HM, C2VN - Centre de Recherche en CardioVasculaire et Nutrition	Directeur de thèse
Mme Delphine GRAS	Chargée de recherche	INSERM, C2VN, Aix Marseille Université	Co-encadrante de thèse
Mme Nadia NATHAN	Professeure des universités - praticienne hospitalière	Université Sorbonne, AP-HP, Maladies génétiques d'expression pédiatrique	Président
M. Philippe REIX	Professeur des universités - praticien hospitalier	Université Claude Bernard Lyon et Hopital Femme-Mere-Enfant hospice civil de Lyon, LBBE - LABORATOIRE DE BIOMÉTRIE ET BIOLOGIE EVOLUTIVE	Rapporteur
M. Thomas TRIAN	Professeur des universités	Université de Bordeaux - CRCTB - Centre de recherche Cardio-Thoracique de Bordeaux	Rapporteur

Mots-clés : bronchiolite oblitérante post infectieuse, épithélium, culture cellulaire, morphologie, adénovirus, enfants

Résumé :

Introduction L'adénovirus de type 7 (HAdV-7) est une cause majeure d'infections respiratoires sévères chez les jeunes enfants immunocompétents et est fortement associé au développement d'une bronchiolite oblitérante post-infectieuse (BOPI). Les mécanismes conduisant de l'infection aiguë à une pathologie respiratoire chronique restent encore mal compris. Notre objectif était de caractériser l'impact de l'infection à HAdV sur l'épithélium respiratoire et d'étudier les anomalies épithéliales morphologiques et fonctionnelles potentiellement associées à la BOPI. **Méthodes** Une analyse morphologique et fonctionnelle ex vivo a été réalisée sur des cellules épithéliales primaires différenciées en interface air-liquide (ALI), obtenues à partir de brossage nasal chez des enfants hospitalisés pour une infection des voies respiratoires basses à HAdV et rhinovirus (HRV), ainsi que sur des biopsies bronchiques au diagnostic de BOPI (NCT06140901). Parallèlement, des cellules épithéliales bronchiques pédiatriques différenciées en ALI, provenant de témoins opérés pour des malformations congénitales des voies aériennes pulmonaires (CERC-SFCTCV-2023-11-21_31945), ont été infectées in vitro par HAdV-7. La réplication virale, la cytotoxicité, l'intégrité épithéliale (TEER), ainsi que les réponses inflammatoires et antivirales ont été évaluées. **Résultats** Les cultures ont été établies avec succès pour 27/39 prélèvements positifs pour le HRV, mais aucun des 7 prélèvements positifs pour le HAdV. De même, les cellules bronchiques infectées par le HAdV-7 ne reconstituaient pas de couche épithéliale après réensemencement, contrairement aux cellules infectées par HRV16, suggérant une altération de la régénération épithéliale. In vitro, l'HAdV-7 induisait une désorganisation épithéliale dès J5 et une diminution de la TEER à partir de J7, avec , avec une réplication virale progressive et une cytotoxicité à partir de J7. L'infection entraînait une augmentation de l'interféron (IFN) de types I et III, de l'IP-10 et de la forme longue de la TSLP, tandis que l'IL-33 restait inchangée. Le cidofovir présentait un effet antiviral dose-dépendant. Dans les épithéliums en ALI issus de patients atteints de BOPI (n=3), la composition cellulaire, l'intégrité de la barrière épithéliale ainsi que l'expression des mucines (MUC5AC et MUC5B) étaient comparables à celles des témoins. En revanche, un profil inflammatoire médié par les IFNs étaient observé, avec une augmentation persistante des IFN α 1, IFN λ 2-3 et IFN β , associée à une diminution des transcrits d'IL-33 et de TSLP et de la sécrétion de TSLP. L'IL-8 restait inchangée. **Conclusion** L'épithélium respiratoire semble être impliqué tout au long de l'infection, jusqu'au stade de BOPI, avec des anomalies structurelles et fonctionnelles qui évoluent de la phase aiguë vers les séquelles post-infectieuses. Ces résultats suggèrent l'existence de biomarqueurs potentiels ainsi que de nouvelles cibles thérapeutiques.

Summary:

Introduction Human adenovirus 7 (HAdV-7) is a major cause of severe respiratory infections in young immunocompetent children and has been strongly associated with the development of post-infectious bronchiolitis obliterans (PIBO). However, the mechanisms underlying the progression from HAdV-7 infection to persistent airway disease remain poorly understood. Our aim was to characterize the impact of HAdV infection on the respiratory epithelium and to investigate the morphological and functional epithelial abnormalities potentially associated with PIBO. **Methods** An ex vivo morphological and functional analysis was performed on primary air-liquid interface (ALI)-differentiated epithelial cells obtained from nasal brushings of children hospitalised for HAdV and rhinovirus (HRV) lower respiratory tract infection and from bronchial biopsies at PIBO diagnosis (NCT06140901). Concurrently, to investigate the impact of HAdV infection on the respiratory epithelium, ALI-differentiated paediatric bronchial epithelial cells, obtained from controls operated for congenital pulmonary airway malformations (CERC-SFCTCV-2023-11-21_31945), were infected with HAdV-7. Viral replication (RT-qPCR, TCID₅₀), cytotoxicity, epithelial integrity (TEER), inflammatory and antiviral responses were assessed. **Results** Among nasal brushings, cultures were successfully established from 27/39 HRV-positive samples but failed for all 7 HAdV samples. Similarly, in vitro HAdV-infected bronchial cells failed to re-establish an epithelial layer after reseeding, unlike HRV16-infected cells, suggesting impaired epithelial regeneration following HAdV

infection. In vitro, HAdV-7 infection reduced TEER from 7 days post-infection (dpi), with disrupted epithelial architecture at 5 dpi. Viral protein expression and replication were confirmed at 5 and 13 dpi, with cytotoxicity from 7 dpi. Infection upregulated type I and III IFN, IP-10 and long form-TSLP, whereas IL-33 was unchanged. Cidofovir showed a dose-dependent antiviral effect. In PIBO-derived ALI epithelia (n=3), cellular composition (basal, ciliated, goblet and neuroendocrine cells), barrier integrity and mucin expression (MUC5AC and MUC5B) were comparable to controls. However, the PIBO epithelium exhibited a distinct IFN-mediated inflammatory profile: a sustained increase in IFN λ 1, IFN λ 2-3 and IFN β secretion contrasted with lower IL-33 and TSLP transcripts and reduced TSLP protein secretion, suggesting an impaired early antiviral response with chronic immune dysregulation, whereas IL-8 was unchanged. Conclusion The respiratory epithelium appears involved throughout infection up to the PIBO stage, with structural and functional abnormalities evolving from the acute phase to post-infectious sequelae, suggesting potential biomarkers and therapeutic targets. "

LE DOYEN

Georges LEONETTI