

Avis de Soutenance

Madame Pauline BRONNEC

Immunologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Identification des variants pathogènes du gène MEFV

dirigés par Monsieur Thomas HENRY

Soutenance prévue le **vendredi 19 décembre 2025** à 14h00

Lieu : Amphithéâtre Pasteur Centre International de Recherche en Infectiologie 21, Avenue Tony Garnier 69007 LYON

Composition du jury proposé

M. Thomas HENRY	INSERM Lyon	Directeur de thèse
Mme Irina GIURGEA	Sorbonne Université Paris	Rapporteuse
Mme Laurence CUISSET	Université Paris Cité	Examinatrice
M. Mathieu RODERO	CNRS Paris	Rapporteur
M. Pascal SEVE	Université Claude Bernard Lyon 1	Examinateur
M. Jérôme DELON	INSERM Paris	Examinateur
Mme Flora MAGNOTTI	INSERM Lyon	Invitée

Mots-clés : Pyrine,MEFV,Inflammasome,FMF,Variants génétiques,

Résumé :

Les variants de signification incertaine (VUS) représentent un obstacle majeur dans l'interprétation des données de séquençage, limitant le diagnostic génétique, notamment pour les mutations à gain de fonction (GoF), difficiles à prédire par des approches in silico. Ces mutations ne se traduisent pas nécessairement par des modifications structurales évidentes, rendant leur évaluation fonctionnelle indispensable. Le gène MEFV, codant la pyrine, illustre parfaitement cette problématique. La pyrine est un senseur clé de l'immunité innée, impliqué dans la formation de l'inflammasome pyrine, un complexe multiprotéique qui active la caspase-1. Cette activation conduit au clivage des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-18 et induit une mort cellulaire inflammatoire, la pyroptose. L'inflammasome pyrine détecte l'inhibition de la GTPase RhoA causées par des toxines bactériennes. L'activation de l'inflammasome pyrine se déroule en deux étapes : la première implique la déphosphorylation de la pyrine, tandis que la deuxième, encore partiellement comprise, implique les microtubules. Lorsque ces mécanismes de régulation sont perturbés par des mutations dans le gène MEFV, une activation incontrôlée de l'inflammasome pyrine survient, entraînant des maladies auto-inflammatoires regroupées sous le terme de « Pyrin-Associated Autoinflammatory Diseases » (PAAD), incluant la fièvre méditerranéenne familiale (FMF) et le syndrome PAAND (« pyrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis »). Ces maladies, d'origine héréditaire, nécessitent un diagnostic rapide pour mettre en place un traitement adapté. Cependant, la classification des variants identifiés par séquençage demeure difficile, de nombreux variants restent

classés comme VUS, ce qui complique la prise en charge clinique. Pour répondre à ce besoin, nous avons développé SpeckSeq, une approche innovante permettant de déterminer les variants hypermorphiques de MEFV en réponse à différents stimuli. Cette méthode combine l'utilisation de code-barres ADN, le tri des cellules uniques basé sur la formation d'un speck ASC (marqueur d'activation de l'inflammasome) et le séquençage de nouvelle génération. Grâce à cette approche, nous avons identifié 49 mutations hypermorphiques, qui se répartissent soit avec les variants PAAND, soit avec les variants FMF. Ces résultats ont été confirmés avec des cellules primaires de patients, validant la pertinence clinique du SpeckSeq. Cette étude a conduit à une reclassification de la pathogénicité des variants de MEFV, réduisant l'incertitude diagnostique et améliorant potentiellement la prise en charge des patients. Au-delà de son impact clinique, SpeckSeq a servi d'outil pour explorer la structure de la pyrine. Nous avons mis en évidence des régions fonctionnelles clés, incluant une cavité putative capable d'accueillir un ligand dans le domaine B30.2, ainsi que des résidus essentiels dans le domaine B-box et les zones d'interaction avec 14-3-3. Ces travaux démontrent que SpeckSeq constitue un outil puissant pour lever l'incertitude des VUS, accélérer le diagnostic et approfondir nos connaissances sur l'inflammasome pyrine. À terme, cette approche pourrait être étendue à d'autres stimuli capables d'activer l'inflammasome pyrine, ainsi qu'à d'autres gènes impliqués dans d'autres maladies auto-inflammatoires.