

## Monsieur Gueorgui DIMITROV

### Biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Rôle pro-inflammatoire de l'ADN ectopique au cours des maladies inflammatoires chroniques intestinales de l'enfant : étude de la voie cGAS-STING*

Travaux dirigés par Madame Dieudonnée TOGBE et Madame Valérie QUESNIAUX

Ecole doctorale : Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant - SSBCV

Unité de recherche : INEM - Immuno-Neuro Modulation

Soutenance prévue le **mercredi 30 septembre 2026 à 14h00**

Lieu : Délégation Régionale du Centre National de la Recherche Scientifique, 3 avenue de la Recherche Scientifique, 45100 Orléans

Salle : amph Charles Sadron

#### Composition du jury proposé

|                            |                                                        |                                       |                        |
|----------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------|
| Mme Dieudonnée TOGBE       | Professeure des universités                            | Université d'Orléans                  | Directrice de thèse    |
| Mme Valérie QUESNIAUX      | Directrice de recherche émérite                        | CNRS et Université d'Orléans          | Co-directrice de thèse |
| Mme Pauline SOULAS-SPRAUEL | Professeure des universités - praticienne hospitalière | Hôpitaux Universitaires de Strasbourg | Rapporteuse            |
| M. Mathieu UZZAN           | Professeur des universités - praticien hospitalier     | Hôpital Henri-Mondor                  | Rapporteur             |
| M. Philippe LANGELLA       | Professeur                                             | INRAe                                 | Examineur              |
| Mme Céline DERAISON        | Directrice de recherche                                | INSERM                                | Examinatrice           |

Mots-clés : maladies inflammatoires chroniques intestinales, ADN ectopique, cGAS, STING, mort cellulaire, ZBP1

#### Résumé :

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) de l'enfant (rectocolite hémorragique et maladie de Crohn) sont en constante augmentation depuis plusieurs décennies dans tous les pays industrialisés. Des facteurs environnementaux, génétiques et microbiens contribuent ensemble à la dysbiose intestinale, la rupture de la barrière intestinale, et au déclenchement d'une réponse immunitaire pro-inflammatoire dérégulée et chronique. La destruction de l'épithélium intestinal qui en résulte, se caractérise en particulier par une mort cellulaire excessive et libération de molécules immunogènes tels que l'ADN nucléaire et mitochondrial. Malgré l'essor des biothérapies ciblant les cytokines pro-inflammatoires ou inhibant la migration des cellules immunitaires activées vers le tissu intestinal, le contrôle de l'inflammation reste souvent partiel et transitoire, sans prévenir systématiquement les complications sténosantes ou pénétrantes, notamment dans les formes pédiatriques, ni la progression vers un cancer colorectal à l'âge adulte. Après avoir réuni une cohorte de 40 participants pédiatriques (15 MICI actives, 15 MICI en rémission et 10 contrôles sains), nous avons montré in vivo que la voie cGAS/STING, qui détecte l'ADN ectopique, est surexprimée dans le tissu colique d'enfants souffrant de MICI actives. Cela entraîne une réponse accrue de l'interféron de type 1 et activation de la voie pro-inflammatoire NF- $\kappa$ B. Les transcrits des DNases, enzymes dégradant l'ADN ectopique et des transporteurs de cGAMP (stimulant endogène de STING et second messenger cellulaire) sont significativement augmentés par rapport aux transcrits des patients en rémission et contrôles sains. En revanche, les ARN messagers des enzymes dégradant cGAMP sont significativement réduits. Parallèlement, l'expression de ZBP1, détecteur d'ADN cytosolique et promoteur de la mort cellulaire dite PANoptose, est très élevée. In vitro, sur culture de cellules épithéliales coliques humaines, nous avons démontré l'activation de la voie cGAS/STING en réponse à la stimulation par cGAMP et l'agoniste de STING diABZI aboutissant à une phosphorylation de STING et sécrétion de la cytokine pro-inflammatoire IL-6. La stimulation de STING a également entraîné des dommages génomiques, la surexpression de ZBP1 et une mort cellulaire accrue. Nos données soutiennent un nouveau concept dans la physiopathologie des MICI, basé sur le rôle de l'ADN ectopique en tant que motif moléculaire associé aux dommages (DAMP), activant la voie pro-inflammatoire cGAS-STING, la mort cellulaire dépendante de ZBP1 et entraînant des dommages génomiques. Ainsi, la voie cGAS/STING et ZBP1 sont des cibles thérapeutiques potentielles dont l'inhibition pourrait participer au contrôle du processus inflammatoire colique au cours des MICI.

#### Summary:

Pediatric inflammatory bowel diseases (IBD) (ulcerative colitis and Crohn's disease) have been steadily increasing for several decades in all industrialized countries. Environmental, genetic, and microbial factors combine to contribute to intestinal dysbiosis, disruption of the intestinal barrier, and the triggering of a dysregulated and chronic pro-inflammatory immune response. The resulting destruction of the intestinal epithelium is characterized in particular by excessive cell death and the release of immunogenic molecules such as nuclear and mitochondrial DNA. Despite the rise of biotherapies targeting pro-inflammatory cytokines or inhibiting the migration of activated immune cells to intestinal tissue, control of inflammation often remains partial and transient, without systematically preventing stenosing or penetrating complications, particularly in pediatric forms, or progression to colorectal cancer in adulthood. After collecting a cohort of 40 pediatric participants (15 active IBD, 15 IBD in remission and 10 healthy controls), we have shown *in vivo* that the cGAS/STING pathway, which detects ectopic DNA, is overexpressed in the colonic tissue of children with active IBD. This leads to an increased type 1 interferon response and activation of the pro-inflammatory NF- $\kappa$ B pathway. Transcripts of DNases, enzymes that degrade ectopic DNA, and cGAMP transporters (an endogenous stimulator of STING and a cellular second messenger) are significantly increased compared to transcripts from patients in remission and healthy controls. In contrast, messenger RNAs of cGAMP-degrading enzymes are significantly reduced. Concurrently, the expression of ZBP1, a cytosolic DNA detector and promoter of cell death known as PANoptosis, is very high. *In vitro*, using cultured human colonic epithelial cells, we demonstrate the activation of the cGAS/STING pathway in response to stimulation by cGAMP and the STING agonist diABZI, leading to STING phosphorylation and secretion of the pro-inflammatory cytokine IL-6. STING stimulation also resulted in genomic damage, ZBP1 overexpression, and increased cell death. Our data support a novel concept in the pathophysiology of IBD, based on the role of ectopic DNA as a damage-associated molecular pattern (DAMP), activating the pro-inflammatory cGAS-STING pathway, ZBP1-dependent cell death, and leading to genomic damage. Thus, the cGAS/STING pathway and ZBP1 are potential therapeutic targets whose inhibition could contribute to the control of the colonic inflammatory process in IBD.