



## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **31 janvier 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **YA Choua**

Titre de la thèse : « *Identification de nouveaux acteurs dans l'adaptation du kératinocyte humain aux changements mécaniques de son environnement* »



### Résumé

*l'homéostasie épidermique repose sur différents paramètres dont les propriétés mécaniques du tissu de soutien, le derme, et les tensions intrinsèques dans le tissu épithélial. Lors de la cicatrisation, l'augmentation de la rigidité cutanée résultante peut perturber les conditions initiales de l'homéostasie. Afin de mieux comprendre les mécanismes cellulaires dans ce contexte physiopathologique, et l'incidence des propriétés mécaniques du derme sur le comportement du kératinocyte humain, nous avons cultivé des cellules primaires à la surface d'hydrogels de polyacrylamide de différentes rigidités (Soft: 4 kPa, Medium: 14 kPa, Rigid: 45 kPa) et mené une étude comparative avec les conditions in vitro utilisées classiquement sur plastique et sur lamelle de verre (> GPa). Nos résultats ont mis en évidence une adaptation phénotypique des kératinocytes dépendante de la rigidité du substrat sur lequel ils se trouvent. Les substrats les plus mous favorisant un arrêt de prolifération et un profil phénotypique similaire à un kératinocyte différencié, alors que les substrats les plus rigides facilitent l'adhérence et la prolifération au détriment de la capacité de différenciation, et ce de façon graduelle. Pour identifier les acteurs cellulaires mis en jeu, nous avons réalisé une analyse transcriptomique par séquençage haut débit qui nous a permis d'identifier un récepteur membranaire orphelin couplé à la protéine G, GPRC5A (G Protein-Coupled Receptor Class C Group 5 Member A) et une protéine du cytosquelette, la spectrine  $\beta$ III, dont l'augmentation d'expression est corrélée avec l'augmentation de la rigidité. Les études de GPRC5A ont montré une dynamique de relocalisation du récepteur lors de l'adhérence des cellules. In vivo, la localisation exclusive de GPRC5A dans les berges de la plaie paraît spécifique des kératinocytes en migration. Ces observations ont été confirmées par l'utilisation d'outils d'ARN interférence (siRNA et shRNA) dirigés contre GPRC5A dans les kératinocytes humains, montrant l'implication de ce récepteur dans l'adhérence et la migration cellulaire. De plus, par l'utilisation d'un modèle d'épiderme reconstruit, nos résultats montrent que la diminution de GPRC5A entraîne un défaut de différenciation et d'organisation du feuillet épidermique, conduisant notamment à une mort cellulaire accrue. En parallèle, par des approches similaires d'ARN interférence dirigée contre le gène SPTBN2 (spectrin beta non-erythrocytic 2) codant pour la spectrine  $\beta$ III, nos résultats mettent en évidence un rôle fonctionnel de la spectrine  $\beta$ III dans la prolifération cellulaire, la propagation et la migration des kératinocytes. Enfin, nous montrons que la spectrine  $\beta$ III participe à la mécanotransduction du kératinocyte en réponse à la rigidité en permettant la survie cellulaire.*

En conclusion, l'ensemble des résultats de cette thèse place GPRC5A et la spectrine  $\beta$ III comme des acteurs clés dans la réponse du kératinocyte primaire humain aux changements mécaniques, permettant d'ouvrir de nouvelles voies stratégiques dans la cicatrisation et plus largement dans les pathologies affectant la mécanique cutanée.