



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **08 juillet 2022**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame DUSOYER Mélissa**

Titre de la thèse : « *Identification de biomarqueurs et de cibles matriciels de l'Epidermolyse bulleuse dystrophique* »

Résumé



L'Epidermolyse bulleuse dystrophique (EBD) est une maladie génétique causée par des mutations du gène *COL7A1* codant le collagène VII. Dans les tissus, cette protéine forme des fibrilles d'ancrage indispensables à la stabilité des lames basales, en particulier au niveau de la jonction dermo-épidermique (JDE) de la peau. Chez les patients souffrant des formes les plus sévères de la maladie (EBD récessive, ou EBDR), la déficience en collagène VII est responsable d'un décollement de l'épiderme, qui évolue progressivement vers des plaies à cicatrisation lente, une fibrose du derme et des cancers agressifs. Afin de suivre la progression de la maladie et de développer de nouveaux traitements, il est aujourd'hui crucial d'identifier de nouveaux biomarqueurs et de nouvelles cibles thérapeutiques. Le principal objectif de la présente étude était de répondre à ces besoins en adoptant une approche centrée sur la matrice extracellulaire (MEC). Ainsi, notre travail a visé à décrire les altérations de la MEC dans la peau EBDR afin de proposer de nouveaux outils thérapeutiques d'utilité clinique.

Nous avons d'abord évalué des protocoles d'enrichissement de la MEC afin de déterminer les plus adaptés à l'étude du matrisome de la peau par spectrométrie de masse. Par l'utilisation d'un modèle murin d'EBDR, nous avons ensuite appliqué les méthodes préalablement développées afin de comparer de façon quantitative le matrisome des peaux de souris saine et EBDR. Les défauts de la MEC ont également été évalués à l'échelle tissulaire par microscopie électronique à transmission. Enfin, la biosynthèse du procollagène $\alpha 1(I)$, un constituant majeur de la MEC, a été analysée.

De fortes dérégulations de la MEC ont été mises en évidence à l'échelle moléculaire comme tissulaire dans la peau de souris EBDR. Dans la JDE, une diminution de la longueur des hémidesmosomes et une baisse de leur abondance le long de la lame basale a été détectée. De façon surprenante, dans la MEC du derme, une réduction de l'abondance de certains protéoglycanes et collagènes fibrillaires, en particulier le collagène I, a été observée, ainsi qu'une diminution du diamètre des fibrilles de collagène et une organisation moins compacte des fibres de collagène. L'étude spécifique de la biosynthèse du procollagène $\alpha 1(I)$ a révélé une baisse de l'expression de *Col1a1* et de l'abondance de la chaperonne des collagènes HSP-47 (heat-shock protein-47). De façon cohérente, une baisse des quantités de procollagène $\alpha 1(I)$ sécrété a été mise en évidence dans l'espace extracellulaire. De plus, l'abondance de BMP-1 (bone morphogenetic protein-1), une protéase impliquée dans l'élaboration du réseau des collagènes fibrillaires, et celle de son régulateur PCPE-1 (procollagen C-

proteinase enhancer-1) étaient réduites, à l'échelle des transcrits ARN et des protéines elles-mêmes. Si un défaut dans la maturation C-terminale du procollagène $\alpha 1(I)$ par la protéase n'a pu être démontré avec certitude, la dérégulation du taux de BMP-1 est susceptible d'affecter d'autres molécules matricielles aussi impliquées dans la fibrillogénèse des collagènes, telles que les protéoglycanes ou encore les enzymes de cross-linking.

Dans leur ensemble, nos données ont permis de mettre en évidence de fortes altérations dans la composition mais aussi l'organisation de la JDE et de la matrice du derme dans la peau EBD, et ainsi démontré la pertinence de notre stratégie centrée sur la MEC. Le réseau des collagènes fibrillaires, qui constitue l'architecture de la MEC de la peau, s'est révélé massivement impacté. Des études additionnelles sont maintenant nécessaires à la compréhension poussée de ces dérégulations. Cependant, les défauts rapportés dans ce travail indiquent déjà que certaines protéines impliquées dans la fibrillogénèse des collagènes, mais aussi des fragments générés par protéolyse des collagènes eux-mêmes, pourraient constituer des biomarqueurs et/ou cibles thérapeutiques pertinents en clinique.

