

# Résumé du 39ème Congrès Annuel de Recherche Dermatologique



Par Camille KIEFFER (Rouen) et Pauline BERNARD (Toulouse) du comité de rédaction de FDVF  
Avec l'aimable relecture du Pr Laurent MISERY (Brest)

## Table des matières

Introduction.....	2	patients atteints de mélanome CD4 Th1, Jessica Mathiot (Besançon) .....	11
Joachim Fluhr (Berlin) : Barrière cutanée : Interface et régulateur.....	2	<b>C18-</b> Analyse fonctionnelle des anomalies génomiques des carcinomes épidermoïdes cutanés non induits par les UV, Carmen Al Youssef (Paris).....	11
<b>C1-</b> Caractérisation de la composition et de la régulation du sécrétome des kératinocytes sénescents, Florence Debacq-Chainiaux (Namur) .....	2	<b>C19-</b> Les cytokines TSLP produites par les kératinocytes induisent la croissance tumorale et le processus métastatique en régulant le micro environnement tumorale, Mei LI (Strasbourg).....	12
<b>C4-</b> Implication des subtilisines dans l'adhérence des dermatophytes à l'épiderme hôte, Emilie Faway (Namur, Liège, Lausanne, Tokyo) .....	3	<b>C20-</b> Xeroderma Pigmentosum : de la modélisation de la pathologie en utilisant <i>CRISPRCas9</i> à la compréhension de la physiopathologie des cancers cutanés, Ali Nasrallah (Grenoble) .....	12
<b>C5-</b> Identification d'une protéase impliquée dans le métabolisme de la filaggrine et dans la cornification : la prolyl endopeptidase PREP, Julie Briot (Toulouse).....	3	Mélanome : résistance et thérapie, Marie-Dominique Galibert (Rennes).....	13
<b>C6-</b> Mise au point d'un modèle <i>in vitro</i> de peau humaine innervée grâce à la technique de microfluidique, Thomas Bessy (Lyon).....	4	<b>C21-</b> Physiopathologie des cicatrices chéloïdes : mise en évidence de l'hétérogénéité inter- et intra-chéloïdienne par analyse des profils transcriptomiques et fonctionnels des fibroblastes chéloïdiens, Kevin Serro (Paris) .....	13
<b>C7-</b> Caractérisation de fibroblastes pour le développement d'un substitut cutané innovant, Lucile Guillot (Lyon) .....	4	<b>C22-</b> Rôle de la protéine PCPE-2 dans l'homéostasie cutanée et la cicatrisation, Manon Napoli (Lyon) .....	14
<b>C8-</b> Modèle <i>in vitro</i> de peau pigmentée, Nicolas Berthelemy (Lyon).....	5	<b>C23-</b> Un milieu activé par plasma froid atmosphérique favorise la cicatrisation en stimulant la migration des kératinocytes humains, Aurélie Marches (Toulouse).....	14
Implication de la communication peau-microbiote dans l'inflammation neurogène (Marc Feuilloley, Evreux/Rouen).....	5	<b>C24-</b> Rôle de la signalisation sérotoninergique dans l'homéostasie cutanée et la cicatrisation, Stéphanie Matar (Paris).....	15
Une prise en charge personnalisée des eczémas est-elle possible ? Audrey Nosbaum (Lyon).....	6	Fibres C-tactiles, Emmanuel Bourinet (Montpellier) .....	15
<b>C9-</b> La dermatite atopique : une maladie modèle pour l'étude du potentiel thérapeutique des liposomes multi-lamellaires, Antoine Bernasqué (Bordeaux) .....	6	<b>C25-</b> Etude de l'implication des cellules de Merkel dans l'initiation du prurit mécanique, Adeline Bataille (Brest) .....	16
<b>C10-</b> Caractérisation du profil transcriptomique des peaux psoriasiques en réponse à un traitement par anti-TNF $\alpha$ , Ewa Hainaut (Poitiers) .....	6	<b>C26-</b> Implication du <i>transient receptor potential cation channel subfamily V member 1</i> (TRPV1) dans la libération de substance P induite par l'acide lactique par les kératinocytes et les neurones <i>in vitro</i> , Raphael Leschiera (Brest).....	16
<b>C11-</b> Les fibroblastes dermiques, des cellules cutanées très sensibles à l'IL-1 libérée par les kératinocytes au cours de l'inflammation stérile induite par une lésion épidermique, Sevda Cordier-Dirikoc (Poitiers, Orléans) .....	7	<b>C27-</b> Le test sur joue de souris pour étudier les troubles sensoriels de la ciguatera : comportements attendus et inattendus, Raphaële Le Garrec (Brest, Davis).....	16
<b>C12-</b> Etude de TRPV1 dans le psoriasis, Emilie Marie-Joseph (Brest, Poitiers, Lyon) .....	8	<b>C28-</b> Neuroprotection de l'épiderme en cas de stress inflammatoire, Numa Deydier (Brest) .....	17
Décryptage de la réponse neuro-immunitaire cutanée : de la science fondamentale au développement de nouvelles thérapies Nicolas Gaudenzio (Toulouse) .....	8	Hypérior et applications cutanées, Nadège Marec et Patrice Hémon (Brest).....	17
<b>C13-</b> Les apparences sont souvent trompeuses... L'exemple de la peau cliniquement saine des patients atteints de vitiligo, Laure Migayron (Bordeaux, Brive-la Gaillarde, Rennes, Paris).....	9	<b>C29-</b> Développement d'une plateforme de test et de diagnostic dédiée aux variantes génétiques rares de signification incertaine (VSI) identifiées chez les patients atteints d'ichtyose congénitale, Nuria Pell Vidal (Toulouse).....	17
<b>C14-</b> Modulation de l'activité des lymphocytes NK par les ions calcium libérés par un pansement alginate : maîtrise de l'infection et de la détersion des plaies, Yara Adib (Paris).....	9	<b>C30-</b> Signature mécanique des niches de cellules souches épidermiques par Microscopie à Force Atomique, Sarah Miny (Lyon) .....	18
<b>C15-</b> Production de cellules CART dendritiques plasmatoïdes fonctionnelles à partir de patient dans le traitement des maladies inflammatoires, Blandine Cael (Besançon).....	10	<b>C31-</b> Etude du métabolisme mitochondrial cutané à l'échelle cellulaire et tissulaire, Justine Dugrain (Lyon).....	18
Immunothérapie du mélanome par transfert adoptif de lymphocytes T aux fonctions optimisées – Nathalie LABARRIERE (Nantes).....	10	<b>C32-</b> Reconstruction d'épiderme humain en milieu animal-free, Julia Bajsert (Namur).....	18
<b>C17-</b> Les cellules cytotoxiques CD4 Th1 à visée antitumorales sont impliquées dans la réponse au long terme aux anti PD1 chez les		Conclusion .....	19

## Introduction

Parce que la dermatologie de demain est déjà en développement dans les laboratoires aujourd'hui, nous avons assisté au Congrès Annuel de Recherche en Dermatologie à Brest.

A la frontière entre sciences fondamentales et applications cliniques, ce congrès nous a donné un véritable aperçu des sujets de recherche intéressant les laboratoires francophones.

Haut lieu d'échanges, de partage et de savoir, le congrès a non seulement rempli nos attentes mais nous a insufflé à tous plein d'espoirs dans les innovations à venir. Mains dans la main, médecins et scientifiques, autour de crêpes bretonnes et huitres iodées, nous avons débattu, réfléchi et construit l'avenir de la dermatologie.

Ces cours résumés ci-dessous vous donneront un bref aperçu non exhaustif des sujets abordés.

Le congrès débute par un rappel de la fonction première de la peau, à savoir sa fonction de barrière, développé par Joachim Fluhr, un Berlinois Brestois, au cours de la première séance plénière : Barrière épidermique et inflammation. En cinq points, les rôles essentiels de la peau ont été abordés

---

15/06/2023

---

### Joachim Fluhr (Berlin) : Barrière cutanée : Interface et régulateur

Le Pr Joachim FLUHR (Berlin) a exposé la fonction de barrière cutanée dans sa composition et sa structure, mais aussi comme organe régulateur à travers ses interactions avec le microbiote intestinal et pulmonaire, ainsi qu'avec le système nerveux.

Il a évoqué le lien entre l'inflammation et le système nerveux central (SNC), à travers les récents articles mettant en évidence l'implication de l'altération de la fonction barrière cutanée dans les troubles du spectre autistique, ou la diminution des céramides totaux épidermiques dans la schizophrénie.

Il a ensuite évoqué les multiples stratégies visant à restaurer la barrière épidermique dans l'eczéma des mains et la supériorité des préparations multi-lamellaires par rapport à des émulsions classiques sur l'amélioration de la fonction barrière épidermique.

Enfin, il a exposé les travaux sur l'exposition à un environnement standardisé enrichi en ozone (lié à

la pollution) et au pollen chez les patients atopiques et non atopiques retrouvant une diminution de la fonction barrière plus marquée chez les atopiques.

### C1- Caractérisation de la composition et de la régulation du sécrétome des kératinocytes sénescents, Florence Debacq-Chainiaux (Namur)

La sénescence cellulaire est liée à l'âge mais augmente avec l'exposition aux UV. Les cellules sénescentes sont morphologiquement et métaboliquement différentes, à l'origine d'un sécrétome (étude globale de l'ensemble des protéines sécrétées par la cellule) appelé « SASP » (pour senescence-associated secretory phenotype) composé de facteurs pro-inflammatoires. Ce sécrétome a un effet pro-tumoral et induit une dysfonction cellulaire par effet paracrine, dont la meilleure compréhension pourrait aider à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques dans le vieillissement cutané.

Inès Bouriez et al. (Namur) ont étudié l'influence du SASP sur les kératinocytes adjacents et a tenté

de comprendre le mécanisme d'action pro-tumoral.

Pour cela, elle a exposé des kératinocytes primaires aux UV, et observé une augmentation de l'activité galactosidase, des dommages à l'ADN et arrêt de prolifération, persistants même après 7 jours après l'arrêt de l'exposition aux UV. Ensuite, elle a étudié l'impact du sécrétome sur les cellules cancéreuses au moyen de chambres de Boyden (outil permettant l'étude de la migration et de l'invasion cellulaire), dans lesquels les kératinocytes étaient exposés au sécrétome de kératinocytes sénescents. Un effet pro-migratoire a été observé après exposition aux UV, montré comme étant d'origine protéique car inhibé par la protéinase K

Deux protéines du SASP ont été identifiées par spectrométrie de masse : la calpaïne-1 (connue pour son rôle dans la progression du mélanome) et la protéine S100A4 (connue pour son effet pro tumoral).

Pour poursuivre ce projet de recherche, cette équipe de recherche envisage l'étude des voies moléculaires impliquées dans la sénescence, et le développement de modèles physiologiques pour étudier l'interaction des kératinocytes sénescents avec la peau.

#### C4- Implication des subtilisines dans l'adhérence des dermatophytes à l'épiderme hôte, Emilie Faway (Namur, Liège, Lausanne, Tokyo)

La dermatophytie est la mycose la plus fréquente au monde avec une prévalence estimée à 20%, et l'émergence de souches résistance incite à mieux connaître les mécanismes/facteurs de virulence des dermatophytes afin d'identifier de potentielles cibles thérapeutiques.

Dans la peau, parmi les 25 gènes les plus surexprimés, on retrouve 3 subtilisines (SUB), un type d'enzyme qui présentent une activité kératinase, dont la surexpression des SUB 6,8 et 10 a été confirmée dans les épidermes reconstruits humains, mais pas dans de simples milieux enrichis en kératine, trop loin de la physiologie humaine.

La cinétique d'expression des SUB a été évaluée par Emilie Faway et son équipe (Namur), retrouvant une surexpression à des temps précoces.

L'étape suivante a constitué en l'inactivation de SUB dans les souches de *Trichophyton benhamiae*, retrouvant un plus faible développement des colonies, confirmé par l'utilisation sur des épidermes humain reconstruits (EHR), retrouvant, pour la souche délétée en SUB6, une diminution de l'adhérence à des temps précoces, compensé après 2 heures faisant évoquer des mécanismes de compensation à la perte des SUB. Par ailleurs, les EHR infectés par la souche SUB6 présentait une altération plus importante et plus précoce de la fonction barrière. Les subtilisines sont donc des facteurs de virulence impliqués dans les mécanismes d'adhésion des dermatophytes et ouvrent la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques.

#### C5- Identification d'une protéase impliquée dans le métabolisme de la filaggrine et dans la cornification : la prolyl endopeptidase PREP, Julie Briot (Toulouse)

Marie-Claire Méchin et al. (Infinity Toulouse) ont travaillé sur l'identification de protéases impliquées dans la protéolyse de la filaggrine et la formation du facteur naturel d'hydratation.

Après une analyse de données omiques, la protéase PREP a été sélectionnée.

Elle est exprimée dans le stratum granulosum/stratum corneum, colocalisée avec la filaggrine et les tests d'activité enzymatiques *in vitro* ont confirmé la capacité de clivage d'un peptide dérivé de filaggrine. De manière intéressante, la désimination des substrats favorisent son activité.

De plus, le knockdown de PREP (au moyen de shRNA) sur des épidermes reconstruits a engendré une diminution de la résistance trans-épidermique, ainsi qu'une diminution de l'expression d'autres protéases impliquées dans le métabolisme de la filaggrine (capase14, bléomycine hydrolase) ou de protéines de différenciation épidermique. PREP pourrait donc représenter une cible thérapeutique potentielle.

#### **C6- Mise au point d'un modèle *in vitro* de peau humaine innervée grâce à la technique de microfluidique, Thomas Bessy (Lyon)**

Les modèles *in vitro* de peau sont de plus en plus complexes et tendent à reproduire de mieux en mieux les interactions retrouvées *in vivo*. Les organes sur puces permettent de proposer des modèles récréant en 3D l'innervation et la vascularisation de la peau. Afin de reproduire l'innervation de la peau, des co-cultures de kératinocytes primaires et de neurones sensoriels sont réalisées. Chaque population de cellules est séparée par des microcanaux au sein desquels seules les dendrites des neurones vont pouvoir se glisser afin de rejoindre les kératinocytes. Cela permet de récréer artificiellement la distance entre les corps neuronaux et les kératinocytes. De part et d'autre, des électrodes vont pouvoir être placées afin d'induire un stimulus ou effectuer des mesures d'électrophysiologie par exemple. De

plus, puisque les deux populations de cellules sont séparées par une isolation fluïdique, les composés libérés au sein du milieu de part et d'autre des microcanaux vont pouvoir être étudiés indépendamment.

Par ailleurs, la peau est également un système irrigué, en plus d'être innervé. Un autre modèle permet également de recréer cette vascularisation.

Les perspectives visent à créer un système tripartite avec une peau irriguée et innervée.

#### **C7- Caractérisation de fibroblastes pour le développement d'un substitut cutané innovant, Lucile Guillot (Lyon)**

Le traitement des plaies aiguës (grands brûlés) ou chronique (diabète, plaie vasculaire, ...) est une problématique majeure de santé publique. Un des traitements les plus efficaces repose sur la greffe cutanée autologue. Cependant, il est parfois difficile de mettre en oeuvre cette technique (manque de zones donneuses par exemple). Cette étude vise à caractériser de potentiels substituts cutanés utilisables comme greffons prêts à l'emploi formés de fibroblastes (appelés ici fibroblastes X). La capacité de ces fibroblastes à synthétiser, organiser et réguler la matrice extra cellulaire a été étudiée par rapport à des fibroblastes adultes et foetaux. Différentes techniques dont des marquages par immunofluorescence ou l'utilisation de microscopie à transmission ont montré que les fibroblastes X produisaient un réseau de collagène plus abondant et différemment organisé avec des fibrilles de collagène plus fines et plus denses. Ces propriétés pourraient être intéressantes dans les processus de cicatrisation des plaies.

### **C8- Modèle in vitro de peau pigmentée, Nicolas Berthelemy (Lyon)**

Les problèmes d'hyperpigmentation sont fréquents chez les phototypes foncés, et augmentent avec l'âge et les pathologies inflammatoires.

Afin d'étudier l'hyperpigmentation dans l'acné et au cours du vieillissement, des modèle in vitro combinant des kératinocytes dérivés de cellules souches pluripotentes induites et de mélanocytes a été étudié.

L'effet dépigmentant d'un extrait botanique appliqué au modèle a été évalué.

Pour le modèle de vieillissement, une diminution du contenu en mélanine et diminution dose dépendante de l'activité tyrosinase en présence de l'extrait botanique comparé au contrôle était observée.

Afin de mimer l'hyperpigmentation post inflammatoire de l'acné, de l'interleukine-1 (IL-1) a été ajoutée au modèle. En présence de l'extrait botanique, il était retrouvé une diminution du contenu en mélanine et de la libération d'IL-1.

Une étude in vivo sur l'humain a ensuite montré des résultats favorables de l'extrait botanique sur l'hyperpigmentation liée à l'acné.

### **Implication de la communication peau-microbiote dans l'inflammation neurogène (Marc Feuilloley, Evreux/Rouen)**

La peau est le plus large organe neuroendocrine du corps humain.

L'inflammation neurogène cutanée est un mécanisme complexe basé sur la libération locale de neuromédiateurs, dont le CGRP (calcitonin gene-related peptide), indépendante de facteur extrinsèque.

Le microbiote cutané est exposé à ces neurohormones par diffusion dans l'espace

intercellulaire et dans la sueur, pouvant influencer sur la capacité de formation de biofilm ou d'adhésion bactérienne.

Le Pr Feuilloley et al. nous ont présenté les différents impacts des neurohormones cutanées sur les bactéries.

Des molécules comme la substance P peuvent augmenter les capacités de cytotoxicité et de virulence de bactéries comme *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, et l'augmentation de production de biofilm de *S. aureus*. Cependant, il existe une variabilité de réponse selon les souches.

Le récepteur bactérien (gram+ et gram-) de la substance P est le Facteur d'élongation Ribosomal Thermosensible (EfTu), sans aucune homologie avec le récepteur de la substance P chez les eucaryotes. Il s'agit d'un récepteur dit « moonlight receptor » c'est-à-dire cumulant deux fonctions, en l'occurrence facteur d'élongation et senseur environnemental.

Le Pr Feuilloley nous a également présenté ses travaux sur l'influence de CGRP et du peptide natriurétique sur les bactéries et leurs récepteurs respectifs.

Par ailleurs, il nous a présenté l'effet des catécholamines sur *Cutibacterium acnes*, connu pour son implication dans l'acné. L'exposition à des catécholamines augmente l'effet de la bactérie sur la lipogénèse par les sébocytes, faisant de *C. acnes*, un relais potentiel dans les effets du stress sur l'acné.

L'endocrinologie bactérienne cutanée est un facteur à prendre en compte dans le dialogue cellulaire cutané.

### **Une prise en charge personnalisée des eczémas est-elle possible ? Audrey Nosbaum (Lyon)**

L'eczéma est une maladie hétérogène de par son âge d'apparition, ses topographies ou encore les comorbidités. On distingue en outre la dermatite atopique, l'eczéma allergique et l'eczéma irritatif. Ces multiples phénotypes doivent être identifiés au mieux afin de proposer la meilleure thérapeutique possible : le bon traitement, au bon moment, pour le bon patient. Une des pistes seraient d'analyser le profil moléculaire (endotype) des patients afin de déterminer leur profil inflammatoire. Et pour cela, rien de mieux que d'aller regarder directement au niveau de la peau. Ainsi après une simple biopsie en pratique courante, on peut analyser les gènes de l'inflammation exprimés (grâce à la méthode de RT qPCR), la voies de signalisation pJAK/pSTAT (en immunohistochimie) mais aussi le profil histologique des prélèvements. Ces techniques permettraient ainsi de différencier les dermatites atopiques des eczémas de contact allergiques ou eczémas irritatifs lorsque la clinique est trompeuse.

Il va falloir encore patienter un petit peu avant de voir cette méthode en pratique courante. Il faudra d'abord optimiser ces techniques et en valider l'impact économique favorable.

### **C9- La dermatite atopique : une maladie modèle pour l'étude du potentiel thérapeutique des liposomes multi-lamellaires, Antoine Bernasqué (Bordeaux)**

Comme on l'a vu précédemment, les lipides tiennent un rôle central dans la fonction de barrière cutanée. Un des thèmes phares en recherche dermatologique est la formulation de composés permettant de restaurer cette couche lipidique lorsqu'elle est altérée.

Ici est présenté l'efficacité des liposomes multi-lamellaires comme vecteur d'actifs au sein de la peau. Les liposomes sont de petites sphères dont la paroi est formée de lipides. Dans le cas des liposomes multilamellaires, plusieurs couches sont superposées. Ces composés permettent de transporter de nombreux actifs hydrophobes et hydrophiles. En faisant varier différents facteurs physico chimiques comme la teneur en eau, on peut contrôler la taille et l'élasticité du liposome ce qui aura un effet sur la cible de ces liposomes. Ainsi plus le liposome est petit et rigide plus il ira en profondeur dans le revêtement cutané, au contraire un liposome plus élastique aura tendance à rester en surface.

A partir d'un modèle de reconstruction de peau associant derme et épiderme et recréant les caractéristiques d'une peau atteinte de DA, des liposomes multi lamellaires ont été utilisés comme vecteurs de corticoïdes. Avec l'utilisation de cette technique, il a été montré que les corticoïdes sont restreints à la couche cornée limitant ainsi le passage systémique.

De plus, l'atrophie épidermique que l'on peut observer au cours de l'utilisation classique des dermocorticoïdes est réduite.

Même sans corticoïdes, les lipomes multilamellaires ont un rôle bénéfique dans la fonction de barrière et sont donc des candidats intéressants pour le traitement d'un grand nombre de maladies cutanées.

### **C10- Caractérisation du profil transcriptomique des peaux psoriasiques en réponse à un traitement par anti-TNF $\alpha$ , Ewa Hainaut (Poitiers)**

Il a été montré précédemment qu'il persiste une signature cutanée inflammatoire chez les patients atteints de psoriasis cutané sévère non-

répondeurs (NR) au traitement par adalimumab (ADA). Le but de l'étude est d'analyser la modification du réseau cytokinique et la signature transcriptomique à M4 du traitement chez les patients atteints de psoriasis, traités par antiTNF- $\alpha$  et d'identifier des marqueurs prédictifs de réponse au traitement.

L'étude est multicentrique, conduite en métropole. Sur les 65 patients inclus, 49 répondeurs (R) ont été identifiés. Les caractéristiques initiales des répondeurs comparées aux non répondeurs retrouvaient des patients de taille significativement plus grande chez les répondeurs, mais, contrairement aux autres études de plus grande échelle, le sexe masculin n'est pas revenu significatif.

A M4, il était retrouvé une expression significativement différente de mRNA d'IL-23p19, IL-22 et IL-36 entre les R et NR.

Le niveau sérique d'ADA était similaire chez tous les patients et aucun anticorps anti-ADA n'a été détecté.

Une analyse univariée pour les marqueurs cutanés au diagnostic prédictifs de réponse étaient : CXCL10, IL12p40 et IL22. Une analyse univariée retrouve plusieurs marqueurs cutanés prédictifs de réponse au traitement avec : le CXCL10, l'IL-12p40 et l'IL-22. A noter que les marqueurs cutanés n'étaient pas détectés dans le sérum. Ainsi, ces marqueurs de réponse pourraient avoir un intérêt en pratique clinique, sous réserve de confirmation des résultats sur une population plus large.

### **C11- Les fibroblastes dermiques, des cellules cutanées très sensibles à l'IL-1 libérée par les kératinocytes au cours de l'inflammation stérile induite par une lésion épidermique, Sevdia Cordier-Dirikoc (Poitiers, Orléans)**

Cette étude s'attache à comprendre les effets de l'IL-1 (médiateur pro inflammatoire) libéré par les kératinocytes au cours d'une « inflammation stérile » (non induite par des agents infectieux) sur les différentes cellules constitutives de la peau (mélanocytes, kératinocytes, fibroblastes et cellules endothéliales).

Les kératinocytes sont d'importants réservoirs d'IL-1 libéré à la suite d'une effraction de la barrière cutanée et permet entre autres le recrutement de nombreuses cellules immunitaires. Dans cette étude, des lysats de kératinocytes (contenant donc l'IL-1) ont été mis en contact avec des mélanocytes, des fibroblastes, des kératinocytes et des cellules endothéliales. Sur ces quatre populations de cellules a été mesurées le taux d'expression du récepteur à l'IL-1 ainsi que la production de cytokines pro-inflammatoires en réponse à l'IL-1. Il s'avère que les fibroblastes sont les meilleures cellules répondeuses à l'IL-1 et cela même à de très faibles concentrations d'IL-1.

Par la suite il a été montré que les fibroblastes ainsi activés jouaient un rôle dans le recrutement des PNN. Et enfin, *in vivo*, les souris génétiquement modifiées pour ne pas exprimer l'IL-1 présentent une inflammation moindre et un recrutement des PNN abaissé.

Ainsi les fibroblastes semblent être les cellules les plus importantes dans le relai du message inflammatoire médié par IL-1 libéré par les kératinocytes au cours d'une inflammation stérile.



### C12- Etude de TRPV<sub>1</sub> dans le psoriasis, Emilie Marie-Joseph (Brest, Poitiers, Lyon)

TRPV<sub>1</sub> est un canal cationique activé lorsque la température dépasse 43°C.

Il est exprimé par les neurones, et dans une moindre mesure par les kératinocytes et cellules endothéliales. TRPV<sub>1</sub> est impliqué dans les dermatoses inflammatoires chroniques. Le travail d'Emilie Marie-Joseph (Brest) est d'investiguer le rôle de TRPV<sub>1</sub> dans la régulation de l'inflammation dans le psoriasis.

Tout d'abord, l'expression de TRPV<sub>1</sub> était retrouvée diminuée dans la peau lésionnelle de patient par rapport à la peau non lésionnelle et par rapport à la peau de patients sains.

Ensuite, l'exposition d'une culture bidimensionnelle (2D) de kératinocytes à un cocktail de cytokines inflammatoires standardisé (dit « M<sub>5</sub> ») conduit à une diminution du transcrit TRPV<sub>1</sub> chez les kératinocytes exposés à M<sub>5</sub> par rapport aux kératinocytes non exposés, confirmé par étude en immunohistochimie. Il en était de même pour les cellules endothéliales.

Il a ensuite été étudié l'impact de TRPV<sub>1</sub> sur la sécrétion d'IL-8 par les kératinocytes par l'évaluation de l'impact de l'ajout d'un inhibiteur de TRPV<sub>1</sub> dans une culture 2D et « M<sub>5</sub> ».

Il n'a pas été retrouvé de modification de transcription d'IL-8, mais dans le surnageant l'inhibition de TRPV<sub>1</sub> était associée à une diminution de l'IL-8. Il en était de même pour la réponse des cellules endothéliales à l'inhibition de TRPV<sub>1</sub>.

Conclusion : Le transcrit TRPV<sub>1</sub> dans les kératinocytes et cellules endothéliales.

Les perspectives pourraient être l'étude de l'expression de TRPV<sub>1</sub> chez les patients psoriasiques avec et sans prurit

### Décryptage de la réponse neuro-immunitaire cutanée : de la science fondamentale au développement de nouvelles thérapeutiques

Nicolas Gaudenzio (Toulouse)

N. Gaudenzio et al. (Inserm) étudient spécifiquement le mastocyte cutané, cellule immunitaire fixe, localisée à proximité des vaisseaux sanguins. Les récepteurs MGPRB<sub>2</sub> et MGPRX<sub>2</sub>, exprimés respectivement par le mastocyte murin et humain, ont plusieurs ligands endogène (dont la substance P) ou exogènes (comme des médicaments), à l'origine du déclenchement de réactions pseudo allergiques.

L'équipe a identifié les unités sensorielles neuro-immunes, constituées d'un neurone TRPV<sub>1</sub><sup>+</sup> au contact de mastocytes, qui jouent un rôle fondamental dans le développement d'une réponse immunitaire de profil Th<sub>2</sub> lors du contact avec un allergène.

Un des projets menés par le laboratoire a été la cartographie des mastocytes dans chaque organe de souris. Il a été démontré que ces mastocytes cutanés résidents proviennent de l'hématopoïèse dite « primitive » et sont tous localisés au contact de neurones. Ils seraient divisés en 7 sous-types.

Un autre projet du laboratoire a porté sur l'étude de la dermatite atopique du nourrisson (concernant 1 nourrisson sur 5), souvent résolutive en quelques mois. L'hypothèse biologique était un pré-conditionnement à cette forme de DA, sous forme d'un évènement survenu *in utero*. A l'aide de modèles murins sains et déficients en MRGPRX<sub>2</sub>, il a été montré que ce phénotype pouvait être causé par la dégranulation *in utero* des mastocytes cutanés.

N. Gaudenzio a ensuite présenté une dernière étude sur la la prédiction de la réaction locale aux sites cutanés d'injections de cetrotide (antagoniste du LH-RH, utilisé ans l'infertilité et



connu pour provoquer des réactions localisées au site d'injection) en utilisant des explants de peau humaine. Le profil transcriptomique des explants à la suite d'injection de Cetrotide retrouvait un profil Th2, et une activation des voies en lien avec les cellules endothéliales, et neurones faisant suspecter le rôle des unités sensorielles neuro-immune dans le déclenchement de ces réactions.

**C13- Les apparences sont souvent trompeuses... L'exemple de la peau cliniquement saine des patients atteints de vitiligo, Laure Migayron (Bordeaux, Brive-la Gaillarde, Rennes, Paris)**

Dans le vitiligo, il est connu que la peau péri-lésionnelle est constituée d'un infiltrat de lymphocytes T régulateur mémoire (Trm)

La physiopathologie du vitiligo est liée à la sécrétion de cytokines de type Th1 et chimiokines entraînant le recrutement de cellules immunitaires qui vont sécréter des métalloprotéinases et cliver la cadhérine E, responsable de l'adhésion des mélanocytes à la membrane basale.

Mais les Trm sont-ils également localisés en peau non lésionnelle ?

Une analyse des clones de TCR présent en peau lésionnelle (PL) et peau non lésionnelle (PNL) a montré une répartition similaire dans les deux secteurs.

L'analyse transcriptomique en *single cell RNA seq* de l'infiltrat dermique et épidermique retrouve une surreprésentation des LT, avec un profil similaire en PL et PNL.

L'analyse des clusters CD8+ ne retrouve pas de différence d'expression des cytokines et les Trm répondent de manière similaire après activation entre peau lésionnelle et non lésionnelle.

Les recherches futures visent à comprendre quels sont les facteurs qui expliquent l'absence de dépigmentation si les mêmes populations, profils transcriptomiques et capacités d'activation sont retrouvés en PL et PNL. La surexpression de PD1 en PNL est une piste à explorer.

Sur le plan pratique, on peut se poser l'intérêt de la proposition d'un traitement local par rapport à un traitement systémique dans le vitiligo.

**C14- Modulation de l'activité des lymphocytes NK par les ions calcium libérés par un pansement alginate : maîtrise de l'infection et de la détersion des plaies, Yara Adib (Paris)**

Les pansements par alginates sont des dispositifs de choix dans le traitement des plaies chroniques notamment exsudatives. Grâce à un transfert d'ions calcium du pansement et d'ions sodium de la plaie un gel peut se former.

Par ailleurs, on sait que les cellules NK sont des cellules immunitaires rapidement mobilisées au cours du processus de cicatrisation et permettent la lyse des cellules infectées et une bonne détersion biologique des plaies.

Cette étude vise à investiguer l'effet des pansements alginate sur les cellules NK. Deux types de pansements ont été étudiés, un pansement par alginate pur (Algosteril) et un pansement par alginate associé à des fibres CMC (carboxyméthyl cellulose) (Biatin Alginate) en comparaison à un milieu contrôle. Le pansement Algosteril augmente de manière significative la cytotoxicité des cellules NK associé à une sécrétion accrue de molécules de l'inflammation par rapport au contrôle et au pansement Biatin Alginate n'ayant pas d'effet sur la cytotoxicité des cellules. Cet effet est induit par l'entrée de calcium intracellulaire dans les cellules NK et il est perdu si l'on neutralise les ions calcium.

Ainsi, c'est bien via les échanges de calcium que le pansement alginate pur active les cellules NK.

### **C15- Production de cellules CART dendritiques plasmactoides fonctionnelles à partir de patient dans le traitement des maladies inflammatoires, Blandine Cael (Besançon)**

Les CART-T cells représentent une nouvelle option thérapeutique dans le traitement de certaines hémopathies ou maladies auto immunes. La technique repose sur la capacité à générer des lymphocytes T à partir des cellules immunitaires du patients capables de reconnaître certains motifs à la surface des cellules que l'on veut éliminer.

Le but de cette étude est de générer des CART-T cells reconnaissant les cellules dendritiques plasmacytoïdes connues pour être impliquées dans des maladies auto-inflammatoires et/ou auto-immune (comme le lupus ou la sclérodémie). A partir de cellules mononuclées du sang de 23 patients atteints de sclérodémie, psoriasis, maladie de Verneuil ou dermatomyosite, il a été possible de produire des CART T capables de lyser les cellules dendritiques plasmacytoïdes de ces mêmes patients *in vitro*. Cette capacité a été conservée dans un modèle *in vivo* de souris humanisées. Cette technique semble donc prometteuse dans le traitement des maladies où les cellules plasmacytoïdes jouent un rôle délétère.

---

16/06/2023

### **Immunothérapie du mélanome par transfert adoptif de lymphocytes T aux fonctions optimisées – Nathalie LABARRIERE (Nantes)**

Le mélanome est le cancer le plus agressif et qui présente la plus haute charge mutationnelle,

promouvant l'émergence de néo-épitopes, reconnus comme « non-soi » par le système immunitaire, rendant l'immunothérapie d'autant plus efficace. Cependant, on retrouve près de 50% de non répondeurs à l'immunothérapie, d'où la nécessité de traitements alternatifs.

Le transfert adoptif de lymphocytes T (TILs) aux fonctions optimisées peut être réalisé à partir des lymphocytes T effecteurs issus de la tumeur ou du sang de patient (étude de phase 3 du NEJM fin 2022).

Les patients répondeurs sur les premières études étaient ceux dont les TILs avaient une spécificité pour MelanA et MELO-E.

MELO-E, et particulièrement MELO-E1, est hautement spécifique du mélanome car est issu d'un lncRNA dont la traduction ne se fait que dans les mélanomes et non dans les mélanocytes sains. Les populations lymphocytaires spécifiques de MELO-E1 ont été triées et amplifiées, leur forte immunogénicité confirmée et persistent jusqu'à 7 jours post injection.

Cependant, il était retrouvé une activation de PD1 et TIGIT qui paradoxalement inhibent l'activation lymphocytaire. Des TILs invalidés pour les immune checkpoint (TIGIT et PD1) ont été produits. Les TIGIT<sup>KO</sup> présentaient une forte réactivité anti tumorale, un maintien des capacités de prolifération car pas d'action sur le cycle cellulaire et une inhibition de l'expression de PD1.

En conclusion, afin d'optimiser les TILs, il est nécessaire de s'intéresser à la fois au microenvironnement tumoral immunosuppresseur, aux mécanismes d'échappement tumoral et au maintien des capacités des lymphocytes transférés dans le temps.

**C17- Les cellules cytotoxiques CD4 Th1 à visée antitumorales sont impliquées dans la réponse au long terme aux anti PD1 chez les patients atteints de mélanome CD4 Th1, Jessica Mathiot (Besançon)**

Dans le mélanome métastatique traité par inhibiteurs de checkpoint anti-PD1, la réponse tumorale observée chez 50% des patients est associée à la présence d'une charge mutationnelle élevée, d'une signature Interféron Gamma et d'un nombre de lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs) élevé. La présence d'une réponse TCD4 de type Th1 anti *hTERT* précédant l'immunothérapie est associée à une meilleure réponse, et est majoritairement observée chez les patients diagnostiqués à un stade précoce et avec un Breslow <1mm.

L'objectif de ce travail est de caractériser le phénotype des Th1 anti tumoraux chez les patients répondeurs.

En ELISPOT interféron- $\gamma$ , 64% des longs répondeurs ont une réponse anti tumorale *hTERT*, souvent plurispécifique (2 ou 3 antigènes).

Parmi ces cellules, prédominance de CD4 effecteur mémoire et surexpression des protéines points de contrôle.

Par ailleurs, il a été montré que la réponse Th1 anti tumorales est inversement corrélée au taux de *MDSC TIE2* (cellules myéloïdes suppressives exprimant le récepteur TIE2).

Les perspectives à la suite de cette étude sont de caractériser la réponse intra tumorale, à corrélérer avec la réponse circulante et de caractériser la réponse Th1 après re-challenge par les anti-PD1 chez les patients initialement répondeurs présentant une récurrence.

**C18- Analyse fonctionnelle des anomalies génomiques des carcinomes épidermoïdes cutanés non induits par les UV, Carmen Al Youssef (Paris)**

Les carcinomes épidermoïdes cutanés (CEC) sont des tumeurs malignes dérivées des kératinocytes, majoritairement UV-induites. Une fraction de ces tumeurs survient en zone non photoexposée, mais sur une inflammation chronique (ulcère, brûlure...)

L'objectif de ce travail était de comprendre les anomalies génétiques des CEC non UV-induits.

Pour cela, un séquençage NGS de 500 gènes impliqués dans les tumeurs cutanées a été réalisé sur l'ADN issu d'échantillons de tissus fixés au formol et inclus en paraffine.

Les mêmes gènes que dans les tumeurs UV-induites étaient retrouvés, mais mutés à des fréquences inférieures : 26% versus 60% pour les CECs UV-induits.

Une nouvelle famille de gène, *KMT2B*, est mutée dans 35% des échantillons, à une fréquence significativement plus importante que pour les carcinomes UV-induits. Il est retrouvé 70% de mutations avec effet délétère sur la protéine, qui joue un rôle dans la régulation de la transcription du cycle cellulaire et le développement. L'inhibition de *KMT2B* par shRNA a montré une augmentation de la migration, sans effet sur la prolifération, suggérant une fonction de gène suppresseur de tumeur.

**C19- Les cytokines TSLP produites par les kératinocytes induisent la croissance tumorale et le processus métastatique en régulant le micro environnement tumorale, Mei LI (Strasbourg)**

Le récepteur de la TSLP (TSLPR) est un hétérodimère exprimé par le kératinocyte.

L'expression de TSLP (*Thymic Stromal Lymphopoietin*, une cytokine apparentée à l'IL-7) et induite par l'altération de la barrière cutanée, agit sur les cellules dendritiques au moyen du TSLPR qui stimule les lymphocytes T exprimant GATA3. TSLPR stimule les Th2 et les Treg qui inhibe les CD8, ainsi que la réponse Interféron- $\gamma$ . Il en résulte une réponse Th2 et Tfh qui jouent un rôle important dans la sensibilisation à un allergène.

L'objectif de ce travail est de déterminer le rôle de TSLP dans la formation du micro-environnement du mélanome.

Le TSLPR est induit dans le mélanome. Chez les souris *knockout* TSLP, un ralentissement de la croissance tumorale est observé, alors qu'une accélération de la croissance est observée lorsque TSLP est surexprimé. Les lymphocytes Treg jouerait un rôle important dans ces mécanismes pro ou anti-tumoraux.

La TSLP stimule l'expression de marqueurs impliqués dans l'inhibition des LTCD8+ et la production d'interféron- $\gamma$  chez les Treg exprimant GATA3.

La TSLP inhibe la prolifération des LT CD8 cytotoxique et la production d'interféron gamma. En conclusion les cellules dendritiques exprimant TSLPR semblent être impliquées dans l'inhibition de la réponse immunitaire anti-tumorale.

**C20- Xeroderma Pigmentosum : de la modélisation de la pathologie en utilisant CRISPRCas9 à la compréhension de la physiopathologie des cancers cutanés, Ali Nasrallah (Grenoble)**

Le xeroderma pigmentosum (XP) est une génodermatose dont les mutations surviennent sur le gène *XPC* impliqué dans la réparation de l'ADN, résultant en des carcinomes UV induits précoces et des mélanomes. Aucun traitement n'est disponible à ce jour, ni aucun modèle humain.

L'objectif de ce travail est de produire un modèle de XP à partir de cellules cutanées humaines.

Pour cela, l'outil CrisprCas9 dirigé contre le gène *XPC* a été introduit sous forme de complexe ribonucléoprotéique dans une lignée humaine, et les cellules présentant un knockout de *XPC* (*XPC<sup>KO</sup>*) ont été isolées et clonées.

En culture bidimensionnelle, 24h après irradiation on retrouve une accumulation de mutations dans les cellules *XPC<sup>KO</sup>* et une viabilité diminuée, avec un effet temps et dose dépendant.

Il est retrouvé une surexpression des protéines JAKSTAT, dans toutes les cellules KO et d'autant plus dans les cellules irradiées.

En culture tridimensionnelle sur des fibroblastes irradiés, il est retrouvé une surexpression des protéines SPRR et involucrine. Sur le plan morphologique, les épidermes reconstruits issus de cellules KO présentent une différenciation anormale par rapport aux épidermes sains, et cette différence est plus marquée dans les cellules irradiées.

En conclusion, la dérégulation de JAK/STAT pourrait représenter une stratégie thérapeutique chez les patients atteints de XP.

### Mélanome : résistance et thérapie, Marie-Dominique Galibert (Rennes)

Le pronostic du mélanome a radicalement changé au cours des dernières décennies avec le développement des thérapies ciblées (anti-MEK et anti BRAF) ainsi que des inhibiteurs de check point. Cependant, les cellules tumorales ont la redoutable capacité de muter à grande vitesse échappant ainsi à nos thérapeutiques. Il est donc indispensable d'élucider les mécanismes de mutations génétiques conduisant à la résistance aux traitements. Cette étude montre que l'activation d'un facteur de transcription appelé AHR (impliqué dans la différenciation de l'épiderme et dans la détoxification des cellules) induit la mise en place d'un programme de résistance au sein de cellules de mélanome initialement sensibles au traitement.

Au contraire, l'inactivation de AHR dans les cellules résistantes conduit à la perte de l'expression des gènes de résistance.

Dans un modèle murin, l'association d'un inhibiteur de BRAF et de AHR permet la diminution de la prolifération tumorale et augmente la durée de vie des souris. Les mécanismes sous-jacents permettant d'expliquer comment l'activation de AHR conduit à la formation de cellules résistantes ne sont pas encore tout à fait élucidés. En effet AHR régule environ 50 gènes directement et indirectement. Mais il a été montré que les cellules activées par AHR acquièrent une capacité d'invasion accrue conduisant à l'apparition de phénotypes de résistances.

Cela est une découverte majeure dans la mesure où l'utilisation d'un inhibiteur de AHR pourraient limiter un échappement thérapeutique.

### C21- Physiopathologie des cicatrices chéloïdes : mise en évidence de l'hétérogénéité inter- et intra-chéloïdienne par analyse des profils transcriptomiques et fonctionnels des fibroblastes chéloïdiens, Kevin Serro (Paris)

Les cicatrices chéloïdes résultent d'un processus anormal de cicatrisation conduisant à la formation de cicatrices hypertrophiques et inesthétiques, pouvant parfois être douloureuses. Les chéloïdes présentent une grande diversité en termes de morphologie et de topographie rendant le traitement complexe. On distingue deux profils différents : les chéloïdes nodulaires et les chéloïdes extensives.

Sachant que les fibroblastes tiennent un rôle majeur dans la formation des chéloïdes, il s'agissait ici de caractériser les différents profils de ces fibroblastes entre les différents types de chéloïdes mais aussi au sein d'une même chéloïde.

Dans un premier temps, il a été montré que les fibroblastes retrouvés dans les chéloïdes exprimaient davantage de gènes impliqués dans le cytosquelette et l'adhésion cellulaires que les fibroblastes de la peau normale. Au sein d'une chéloïde nodulaire, les fibroblastes situés au centre de la cicatrice présentent une capacité de contraction accrue et produisent plus de matrice extra cellulaire. Les fibroblastes en périphérie présentant quant à eux des capacités migratrices diminuées. De plus ce sont les fibroblastes du derme papillaire qui montrent une capacité de prolifération plus importante par rapport aux fibroblastes réticulaires qui produisent davantage de facteurs de croissance. Ces facteurs expliquent ainsi l'architecture nodulaire de certaines chéloïdes.

Dans le cas des cicatrices extensives, les capacités de prolifération et de contraction sont diminuées

au sein des fibroblastes au centre de la cicatrice. Au contraire, les fibroblastes en périphérie produisent plus de facteur de croissance et ont une capacité de migration et de contraction accrues, et cela d'autant plus que les fibroblastes sont situés dans le derme papillaire. Les fibroblastes du derme réticulaire sont quant à eux davantage impliqués dans la production de matrice extracellulaire.

Ainsi, il a été mis en évidence deux modèles différents expliquant l'expansion des cicatrices chéloïdiennes nodulaires et extensives permettant de proposer des traitements plus ciblés.

### **C22- Rôle de la protéine PCPE-2 dans l'homéostasie cutanée et la cicatrisation, Manon Napoli (Lyon)**

Il est crucial d'élucider les voies enzymatiques impliquées dans l'homéostasie cutanée et la cicatrisation. Ainsi, cette étude s'est intéressée à une protéase spécifique appelé PCPE-2 (*Procollagen C-Proteinase Enhancer*) et appartenant à la grande famille des BTP (*BMP-1/Tolloid-like*) jouant un rôle dans l'assemblage des fibres de collagène, l'angiogenèse ou encore le métabolisme des lipides.

A la différence de sa cousine PCPE-1, PCPE-2 n'induit pas le clivage du collagène permettant la formation des fibres de collagène. Les expériences montrent que PCPE-2 est produit par les kératinocytes et se dépose dans la matrice extracellulaire. Les souris femelles déficientes en PCPE-2 montrent une diminution de la densité vasculaire et des adipocytes de plus petite taille et cela uniquement chez les femelles.

Au cours du processus de cicatrisation, les souris déficientes montrent un retard de fermeture de la plaie et de formation du tissu de granulation.

Ainsi, PCPE-2 semble influencer la néoangiogenèse de manière sexe-dépendant, suggérant un rôle potentiel des hormones sexuelles tel que l'œstrogène.

### **C23- Un milieu activé par plasma froid atmosphérique favorise la cicatrisation en stimulant la migration des kératinocytes humains, Aurélie Marches (Toulouse)**

Le plasma froid est un état physique particulier, un gaz partiellement ionisé capable d'interagir avec des milieux liquides et de produire des espèces réactives de l'oxygène. Or, il est connu que les espèces réactives de l'oxygène jouent un rôle dans le processus de cicatrisation.

Ici il s'agissait d'étudier l'effet de l'application d'un milieu liquide activé par du plasma hélium sur des kératinocytes en culture. La durée d'activation du milieu par le plasma variait de 10 à 120 secondes. Les kératinocytes traités par un milieu activé plus de 60s par le plasma froid se sont révélés être cytotoxiques et présentaient une capacité de migration diminuée avec une augmentation du stress oxydant.

En revanche, dans le cas d'un milieu traité moins de 60s par le plasma froid, il n'y avait pas de cytotoxicité, ni de stress oxydant. Il n'y avait pas non plus de prolifération et de différenciation accrue. Cependant, la capacité de migration des kératinocytes étaient améliorée et confirmée par une ré-épithélialisation accélérée dans les modèles de peau 3D.

Ainsi un milieu activé par du plasma froid pendant moins de 60 secondes permet d'accélérer le processus de ré-épidermisation d'une plaie (sans induire de cytotoxicité ou de stress oxydatif comme c'est le cas si le milieu est traité plus de 60s).

### **C24- Rôle de la signalisation sérotoninergique dans l'homéostasie cutanée et la cicatrisation, Stéphanie Matar (Paris)**

La sérotonine est un neurotransmetteur susceptible de jouer un rôle dans l'homéostasie cutanée. 90% de la sérotonine est stockée dans les plaquettes qui agissent au cours de la première phase de cicatrisation. Des données de séquençage ont montré que certains récepteurs de la sérotonine avaient une expression omniprésente dans les cellules de la peau.

De plus, des souris déficientes en sérotonine montrent un délai de cicatrisation allongé par rapport aux souris sauvages, renforçant l'hypothèse de l'implication de la sérotonine dans l'homéostasie cutanée. Ainsi, l'idée est d'utiliser des inhibiteurs de recapture de la sérotonine topiques afin de favoriser la cicatrisation.

La molécule X testée ici, un agoniste partiel des récepteurs de la sérotonine appliquée en topique sur des plaies de souris a permis de réduire significativement la taille de la plaie en favorisant la prolifération des kératinocytes et stimulant la néoangiogenèse. Ainsi les inhibiteurs topiques de recapture de la sérotonine pourraient être des traités de choix dans le traitement des plaies chroniques.

### **Fibres C-tactiles, Emmanuel Bourinet (Montpellier)**

Parmi les neurones somatosensoriels impliqués dans les voies de la douleur, on retrouve les neurones à bas seuil d'activation (LTMR). Dans ces neurones, un canal sodique CAV<sub>3</sub> est impliqué dans l'amplification du potentiel d'action. Chez les souris, l'inhibition de CAV<sub>3</sub> entraîne une analgésie.

Le pattern d'expression de CAV<sub>3</sub> est en majorité dans les neurones sensoriels cLTMR, et en moindre proportion dans les fibres A $\delta$  et A $\beta$ .

Les études en patch clamp et avec technique du nerf-peau ont permis de caractériser CAV<sub>3</sub> comme un amplificateur de la mécano-détection. Sur des modèles in vivo de souris pour lesquelles une délétion spécifique de CAV<sub>3</sub> a été réalisée dans les fibres cLTMR, il est identifié une altération de la sensation de froid et de toucher, sans altération de la sensation de chaud douloureux.

Un partenariat entre le CHU de Montpellier et Brest a permis la mise en place d'un programme de prélèvement de ganglions dorsaux de la moelle épinière chez des donneurs humains décédés. Les caractéristiques électrophysiologiques et le pattern d'expression de CAV<sub>3</sub> sont retrouvés à l'identique chez l'homme et la souris.

Sur les modèles murins présentant une délétion de CAV<sub>3</sub>, il est noté une diminution des comportements sociaux, et lorsque CAV<sub>3</sub> est surexprimé, il est noté une augmentation des comportements sociaux et diminution des comportements anti-sociaux.

Un autre projet portait sur les troubles du spectre autistique (TSA) et l'altération des voies sensorielles

Chez l'homme, la mutation SHANK<sub>3</sub> est impliquée dans les TSA. Les souris avec délétion de SHANK<sub>3</sub> dans les fibres sensorielles présentent une altération de la nociception.

La délétion germinale de SHANK<sub>3</sub> chez la souris induit un comportement d'auto-mutilation, et d'hypersensibilité au prurit chimique. La technique du nerf-peau a permis de montrer que les cLTMR sont les seules altérées chez les souris déficientes en SHANK<sub>3</sub>.



**C25- Etude de l'implication des cellules de Merkel dans l'initiation du prurit mécanique, Adeline Bataille (Brest)**

Le prurit mécano-induit correspond en sémiologie clinique à l'alloknésie.

La détection du tact léger en peau pileuse et glabre est permise par les complexes de Merkel (contenant kératinocytes, cellules de Merkel, fibres A $\beta$ , A $\delta$  et C).

Les cellules de Merkel (CM) étant impliquées dans le psoriasis et prurigo, ce travail vise à comprendre l'implication des CM dans l'initiation du prurit mécanique.

En immunohistochimie sur peau humaine et de rat, il a été identifié des contacts synaptiques entre les CM et les fibres A $\delta$  et C. Les CM pourraient stimuler les interneurons activateurs et induire un PMI.

La fonctionnalité de contact a été démontrée en utilisant un modèle de co-culture de cellules nerveuses et CM de rat, et a retrouvé en immunohistochimie des vésicules synaptiques en regard du point de contact entre la fibre et la CM. A l'issue de travail qui a permis de mettre en évidence pour la première fois des contacts synaptiques entre CM et les fibres A $\delta$  et C, il est supposé que la CM communique avec la synapse pour initier le PMI aux interneurons inhibiteurs.

**C26- Implication du *transient receptor potential cation channel subfamily V member 1* (TRPV1) dans la libération de substance P induite par l'acide lactique par les kératinocytes et les neurones in vitro, Raphael Leschiera (Brest)**

L'acide lactique est utilisé en pratique clinique pour aider à diagnostiquer les peaux sensibles. Chez ces patients, le contact avec l'acide lactique provoquera une sensation rapide déplaisante. Mais quels sont les mécanismes qui sous-tendent

l'effet de l'acide lactique au niveau cellulaire ? Ce travail s'intéresse au rôle des kératinocytes et de la substance P.

Après avoir déterminé les conditions de culture cellulaire permettant une viabilité cellulaire en présence d'acide lactique, il a été observé une libération de substance P après ajout d'acide lactique, même à des doses très faibles.

L'effet de l'acide lactique sur la substance P et l'activité de TRPV1 a été vérifié sur des neurones dérivés de cellules IPS.

Ces résultats suggèrent que TRPV1 est impliqué dans la libération de neuropeptides lors de l'acidification du milieu.

**C27- Le test sur joue de souris pour étudier les troubles sensoriels de la ciguatera : comportements attendus et inattendus, Raphaële Le Garrec (Brest, Davis)**

La ciguatera est une intoxication alimentaire endémique dans les pays tropicaux, et les troubles sensitifs en sont le symptôme le plus fréquent. La physiopathologie est mal élucidée et la prédominance de certains troubles sensitifs suggère que les ciguatoxines (CTX) seraient impliquées.

Afin de distinguer les réponses à la douleur du prurit induit par la CTX, le test sur joue de souris a été réalisé.

Le prurit localisé était déclenché à des doses aussi faibles que 0,1 nM, alors que la douleur à la CTX était dose dépendante et déclenchée à partir de 10 nM. A des doses plus élevées (> 1 nM), il était observé un prurit diffus et des signes neurologiques centraux (ataxie) également présents chez des souris déficientes en mastocytes, éliminant une anaphylaxie.

### **C28- Neuroprotection de l'épiderme en cas de stress inflammatoire, Numa Deydier (Brest)**

On sait désormais que les neurones tiennent une place majeure dans les pathologies dermatologiques et notamment sur le prurit, mais pas uniquement. En effet, il a été montré *in vitro*, que les kératinocytes présentaient une meilleure différenciation avec une augmentation de la filaggrine et de la loricrine en co-culture avec des neurones. Cette étude montre que les kératinocytes activés par un cocktail inflammatoire mimant l'inflammation retrouvée dans la dermatite atopique présentaient un stress inflammatoire diminués s'ils étaient cultivés en présence de neurones. En absence de neurones, les kératinocytes seuls activés par ce cocktail inflammatoire montrent un taux d'expression de filaggrine diminué. L'ajout de neurones permet de restaurer en partie le taux d'expression de filaggrine.

Les mécanismes de neuroprotection intervenant ici méritent d'être élucidés. Il semblerait que le facteur neurotrophique issu du cerveau, appelé BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*) y jouerait un rôle.

### **Hypérion et applications cutanées, Nadège Marec et Patrice Hémon (Brest)**

La plateforme Hyperion (HYPE Research in Immunology and Oncology) est née en 2019 avec l'acquisition du cytomètre de masse imageur. La cytométrie en flux classique présente plusieurs limitations parmi lesquelles le chevauchement des spectres, qui limite l'analyse simultanée de plusieurs marqueurs. Le développement de la cytométrie de masse en image pallie à ce problème et permet l'analyse simultanée de 40 marqueurs.

Sur le plan technique, les anticorps sont couplés à des isotopes métalliques, et après préparation et marquage des lames, une torche de plasma ionise les isotopes métalliques et le temps de vol de chaque isotope est mesuré, et les données analysées pour représenter l'intensité et la distribution spatiale des différents isotopes.

Cette technologie a notamment permis d'identifier des biomarqueurs pronostiques et d'étudier le microenvironnement tumoral des carcinomes épidermoïdes cutanés récidivants.

### **C29- Développement d'une plateforme de test et de diagnostic dédiée aux variantes génétiques rares de signification incertaine (VSI) identifiées chez les patients atteints d'ichtyose congénitale, Nuria Pell Vidal (Toulouse)**

Les ichtyoses congénitales sont des maladies monogéniques rares, dont plus de 50% sont dues à des mutations pathogènes induisant une dérégulation du métabolisme des céramides. Chez 5-10% des patients, des variants peu ou jamais décrits, dits « variants de signification indéterminée (VSI) » sont retrouvés dans des gènes impliqués dans les ichtyoses congénitales, empêchant de poser un diagnostic formel et de les inclure dans les études cliniques. L'objectif de ce travail était de développer une méthodologie pour classer les VSI en variant pathogène ou bénin.

Deux approches ont été utilisées. D'abord une analyse fonctionnelle directe, en transduisant des lignées kératinocytaires avec un vecteur lentiviral contenant la mutation et analyse de la fonctionnalité de l'enzyme à 48h.

Une analyse fonctionnelle indirecte a été ensuite menée et consistait en la transduction lignées kératinocytaires immortalisées (N/TERT)

préalablement inactivées pour un gène clé du métabolisme des céramides (*PNPLA1*) avec un vecteur lentiviral contenant la mutation.

Les cellules étaient ensuite multipliées et cultivées en épidermes reconstruits et analysés.

Ces deux techniques ont permis de reclasser en pathogène 3 VSI.

### **C30- Signature mécanique des niches de cellules souches épidermiques par Microscopie à Force Atomique, Sarah Miny (Lyon)**

Le renouvellement cutané est assuré par les cellules souches épidermiques qui sont organisées en niches créant ainsi un environnement spécifique, propice au maintien du pool de cellules souches. Ces niches peuvent se localiser au-dessus des papilles dermiques ou au-dessus des crêtes épidermiques.

Cette étude s'attache à caractériser davantage ces niches de cellules souches en utilisant la technique de microscopie à force atomique permettant d'étudier les forces mécaniques subies par un milieu. Les résultats montrent que les cellules souches au niveau des niches des papilles dermiques présentent une rigidité supérieure par rapport aux autres cellules basales des crêtes épidermiques.

Les comparaisons entre peau jeune et peau de patients âgés de plus de 60 ans montrent que le vieillissement s'accompagne d'une diminution de la hauteur des papilles dermiques et que la différence de rigidité observée chez les peaux jeunes entre les niches de cellules souches des papilles dermiques et les autres cellules de la basale tend à s'amenuiser.

Ainsi une homogénéisation de la rigidité tissulaire est observée avec l'âge avec une augmentation globale de la rigidité de toutes les cellules de la basale. Cette technique s'avère donc très utile

afin de discriminer les différentes sous-populations de cellules au niveau de la couche basale de l'épiderme.

### **C31- Etude du métabolisme mitochondrial cutané à l'échelle cellulaire et tissulaire, Justine Dugrain (Lyon)**

L'homéostasie cutanée repose en partie sur la vascularisation de la peau. Comprendre le fonctionnement métabolique et notamment les paramètres de la respiration mitochondriale des cellules endothéliales est le but de cette étude. Deux types de cellules endothéliales ont été analysées : les microvasculaires (HDMEC) et les macrovasculaires (HUVEC).

Une technique de mesure de la consommation en oxygène (appelée *SeaHorse*) permet d'établir le profil respiratoire des cellules. Il a été montré grâce à cette technique que les cellules macrovasculaires ont une meilleure capacité à répondre à un stress via le métabolisme glycolytique. De plus, elles ont également une meilleure capacité à réaliser un switch métabolique entre respiration mitochondriale et glycolyse.

Par ailleurs, la mise au point de cette technique permet de caractériser le métabolisme des cellules dans des conditions pathologiques, comme dans le cas du diabète de type 2 où une diminution du métabolisme mitochondrial des cellules endothéliales a été mise en évidence, participant au retard de cicatrisation observé chez ces patients.

### **C32- Reconstruction d'épiderme humain en milieu animal-free, Julia Bajsert (Namur)**

On ne peut étudier la peau sans avoir des modèles d'épithélium *in vitro* reproductibles et robustes. La mise au point des milieux de culture des

kératinocytes remonte dans les années 70. L'isolement des kératinocytes se fait à partir de prépuces d'enfants ou d'échantillons d'abdominoplastie et il est possible de créer des kératinocytes immortels. Initialement les kératinocytes étaient cultivés sur un lit nourricier composés de fibroblastes auquel était ajouté un sérum enrichi avec des facteurs de croissance. Certains de ces composés sont issus d'animaux, dont la disponibilité peut être variable.

Ici est présentée une technique de culture s'affranchissant des composés issus d'animaux. La mise en place de cette technique a été motivé entre autres par la pandémie COVID-19 induisant de nombreux défauts d'approvisionnement. C'est grâce aux données de l'open-source et à la collaboration de nombreux chercheurs qu'il a été possible de créer des épidermes reconstruits indépendant de tout produit animal.

Mais l'aventure n'est pas finie car les kératinocytes ainsi cultivés montrent un profil inflammatoire inattendu. Il s'agit donc de continuer à trouver la meilleure « recette » de milieu afin de cultiver les kératinocytes au plus proche des conditions in vivo en maintenant cette démarche d'open-source qui a permis à cette technique de voir le jour.

### Conclusion

C'est par ce magnifique exemple de partage de connaissances que finit ce superbe congrès.

Le téléphérique nous fit une dernière fois survoler la Penfeld, laissant derrière nous l'atelier des Capucins et nous emmenant déjà vers la prochaine édition du congrès à Lyon le 27 et 28 juin 2024 dont la vidéo présentation annonce de riches découvertes.

**Rédaction** : Camille Kieffer (Rouen) et Pauline Bernard (Toulouse)

**Coordination** : Lucas Klepfisch (Lyon)

**Relecture** : Pr Laurent Misery (Brest)

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec ces résumés.