Avis de Soutenance

Madame Elodie HENRIET

Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Criblage bioluminescent microARN-21 et RILES spécifique de banques d'extraits naturels de plantes pour des applications cosmétiques et pharmaceutiques

dirigés par Monsieur Patrick BARIL

Ecole doctorale : Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant - SSBCV
Unité de recherche : CBM - Centre de Biophysique Moléculaire

Soutenance prévue le ***jeudi 24 juin 2021*** à 10h00
Lieu : Campus CNRS Avenue de la Recherche Scientifique 45071 Orléans
Salle : Amphithéâtre Charles Sadron

Composition du jury proposé

M. Patrick BARIL	Université d'Orléans	Directeur de thèse
M. Jérôme LAMARTINE	Université Claude Bernard Lyon I	Rapporteur
M. Michel SIMON	CNRS Toulouse	Rapporteur
Mme Catherine GRILLON	CNRS Orléans	Examinatrice
Mme Iuliana POPA	Université Paris Saclay	Examinatrice
Mme Emilie DESTANDAU	Université d'Orléans	Examinatrice

Mots-clés : criblage,microARNs,plantes,peau,cicatrisation,

Résumé :

Les microARNs sont maintenant reconnus comme des régulateurs majeurs de l'expression des gènes à l'échelle post-transcriptionnelle. Cette classe d'ARN non codant contrôle de nombreux processus biologiques, que ce soit au cours du développement embryonnaire qu'au cours de la vie adulte. De par leur mode de régulation multigénique, les microARNs sont des cibles biologiques adaptées aux stratégies de criblage de librairies d'actifs d'intérêt fondamental et pharmacologique. Au laboratoire, nous avons conçu une sonde d'imagerie bioluminescente inductible par les microARNs, dénommée RILES pour « RNAi-Inducible Luciferase Expression System », permettant de générer des signatures optiques en fonction du niveau d'activité des microARNs dans les cellules ou les tissus. Nous avons montré que le système RILES se prête particulièrement bien aux stratégies de criblage de banques de mimiques synthétiques de microARNs en offrant spécificité, sensibilité et rapidité d'exécution. Au cours de ce doctorat, nous avons mis en place une stratégie de criblage RILES sous contrôle de l'axe de régulation TGF-β1/microARN-21, en raison de son rôle clé dans la ré-épithélialisation des plaies cutanées. Le criblage d'une extractothèque de 37 extraits de plantes médicinales sur les kératinocytes humains nous a permis d'identifier trois extraits bruts, dont celui du Silybum marianum (L.) Gaertn. Ce dernier a fait l'objet d'une caractérisation fonctionnelle poussée. Nous avons montré que l'effet du Silybum marianum (L.) Gaertn sur l'expression du microARN-21-5p est dépendant d'une fraction composée, entre autres, de six flavonolignanes appelée silymarine (SM). Des essais d'immunoprécipitation de la protéine Argonaute 2 couplée à la RT-qPCR ont permis de révéler que la SM régule le microARN-21 selon un mode de régulation original. Celui-ci met en jeu une augmentation de la prise en charge du microARN-21 par le complexe d'interférence à ARN (RISC) et conduit à la répression des cibles du microARN-21 au niveau post-transcriptionnel. Afin de caractériser l'effet biologique de la SM dans les kératinocytes humains, nous avons privilégié une approche de séquençage à haut débit du transcriptome (RNA-seq) puis validé les signatures transcriptomiques obtenues par des tests fonctionnels. Nos

travaux ont montré que la SM bloque le cycle cellulaire en phase G0/G1 et inhibe la différenciation des kératinocytes via l'inhibition de l'expression de Notch3, des kératines K1 et K10, de l'involucrine, de la filaggrine et de la loricrine. De façon inattendue, la SM active la synthèse des lipides en partie en inhibant la phosphorylation d'AMPK et en augmentant l'activité transcriptionnelle de PPARγ. Par ailleurs, la SM ralentit la migration cellulaire en inhibant l'expression génique de MMP3 et la fibronectine au profit de celle de TIMP3 et l'E-cadhérine. Enfin, la SM inhibe les réponses inflammatoires, en partie, en bloquant l'activité transcriptionnelle de NF-κB. Ces nouvelles données moléculaires nous ont incité à évaluer l'effet protecteur de la SM dans un modèle murin de psoriasis induit par l'imiquimod (IMQ). Nos résultats ont montré que le traitement des peaux de souris avec la SM conduit à une atténuation significative de la sévérité du psoriasis. L'examen histologique des coupes de peaux de souris a confirmé les changements morphologiques : diminution de l'acanthose, de l'hyperkératose, de la parakératose et de l'infiltration dermique de cellules inflammatoires. A l'échelle moléculaire, la SM restaure l'expression génique des principaux marqueurs moléculaires de l'inflammation, de la différenciation des kératinocytes et du métabolisme lipidique. Bien que ces travaux méritent d'être approfondis, la SM offre une méthode alternative et/ou complémentaire aux traitements pharmacologiques actuels pour la prise en charge des patients souffrant de psoriasis.