

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **20 décembre 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame CICCARELLO Delia**

Titre de la thèse : « *Régulation du devenir des cellules souches musculaires par les lysines déméthylases* »



Résumé

Les cellules souches musculaires (CSM) sont des cellules souches adultes responsables de la régénération des muscles squelettiques et du maintien de l'intégrité des tissus. Alors qu'elles sont quiescentes dans des conditions de repos, en cas de blessure ou de traumatisme, les CSM s'activent, quittent l'état quiescent, prolifèrent et se différencient en myocytes, qui fusionneront ensuite en myotubes avant de se transformer en myofibres. Notamment, un sous-ensemble de MuSC activées résiste au processus de différenciation, retournant ainsi à l'état de quiescence pour reconstituer le pool de MuSC qui soutiendra les futurs cycles de régénération musculaire.

Les cellules souches musculaires, comme les autres types de cellules souches, ont besoin d'énergie pour remplir toutes leurs fonctions spécialisées. En effet, de plus en plus de preuves ont montré que les CSM adaptent leur métabolisme en fonction de demandes énergétiques spécifiques et cette capacité est appelée reprogrammation métabolique. La transition du destin des CSM est principalement contrôlée par deux états métaboliques cellulaires : l'état oxydatif, qui se produit principalement dans les CSM quiescentes et dans les CSM engagées qui dépendent principalement de l'oxydation des acides gras (FAO), et l'état glycolytique qui caractérise les CSM en prolifération qui utilisent la glycolyse pour générer les substrats nécessaires à la création de macromolécules essentielles.

Dans ce contexte, le métabolisme des lipides a récemment été décrit pour la première fois comme un nouveau modulateur du destin des cellules souches musculaires. En particulier, la dynamique des gouttelettes lipidiques (LDs), un organite chargé du stockage des lipides neutres lorsque les CSM passent de la FAO à la glycolyse, a été décrite comme régulant le comportement des cellules souches musculaires au cours de leurs différents destins cellulaires. Cependant, la voie moléculaire responsable de cette régulation est encore inconnue.

Il est intéressant de noter que la majorité des substrats et des cofacteurs produits par plusieurs voies métaboliques sont nécessaires pour modifier la chromatine, ce qui souligne l'importance de la régulation épigénétique et métabolique qui agit de manière concertée pour réguler le destin des cellules souches musculaires. Ainsi, les changements dans le métabolisme affectent la disponibilité des substrats et la production de métabolites, ce qui entraîne des modifications dans le paysage épigénétique et donc dans l'expression des gènes. Parallèlement, les modificateurs épigénétiques sont également capables de réguler directement l'expression de différents gènes métaboliques influençant l'état, l'identité et la fonction des cellules.

Dans cette thèse, nous avons étudié le rôle de deux lysines déméthylases, LSD1 et PHF2, dans le devenir des cellules souches musculaires.

Nous montrons que la déméthylase LSD1 contrôle un point de contrôle nucléaire dans la signalisation Wnt/ β -Caténine pour réguler l'auto-renouvellement des cellules souches musculaires.

En effet, nous avons étudié le rôle d'un modificateur épigénétique spécifique, l'histone lysine déméthylase Plant Homeodomain Finger Protein2 (PHF2), dont la fonction était jusqu'à présent inconnue dans le muscle squelettique.

Des données préliminaires du laboratoire ont mis en évidence un rôle fondamental de la déméthylase PHF2 au cours de l'engagement des myoblastes. En effet, ils ont montré que PHF2 interagit avec une autre lysine déméthylase spécifique appelée lysine spécifique déméthylase 1 (LSD1) en stabilisant de tels modificateurs épigénétiques sur la région enhancer centrale du gène MyoD pour permettre efficacement l'expression de MyoD pendant l'engagement des myoblastes.

Dans cette thèse, en utilisant des souris KO inductibles par PHF2 exprimant une CRE-recombinase inductible par le tamoxifène (TAM) sous le contrôle du promoteur de Pax7 (Pax7CreERT2 ; PHF2Flox/Flox, ci-après nommé PHF2 SCiKO), nous avons pu montrer que, in vivo, PHF2 régule le renouvellement et la stabilité de la protéine LSD1 lors des événements précoces de la régénération. Il est important de noter que l'ablation de PHF2 dans les MuSC entraîne une diminution du pourcentage de MuSC LSD1+, ce qui conduit à une altération de l'engagement 5 et 7 jours après la lésion et à des défauts de régénération musculaire 28 jours après la lésion.

En effet, nous montrons ici que PHF2 agit comme un nouveau modulateur du destin des cellules souches musculaires en régulant la dynamique des gouttelettes lipidiques. Nous avons pu montrer que l'ablation de PHF2 entraîne une grave altération du potentiel d'auto-renouvellement et de différenciation des CSM in vitro et in vivo. Il est important de noter que les souris SCiKO PHF2 se caractérisent par un nombre accru de MuSC engagées (MYOG+) qui accumulent des gouttelettes lipidiques 11 jours après la lésion. En effet, la déplétion de PHF2 entraîne une diminution de la concentration d'AMPc par rapport au contrôle, ce qui suggère une moindre activation de la PKA et donc une altération de la lipolyse des LD une fois que PHF2 est déplétionné. Par ailleurs, l'analyse du taux de consommation d'oxygène mitochondrial (OCR) dans les cellules MYOG+LD+ a révélé que la déplétion en PHF2 conduit à des défauts dans l'utilisation des substrats (acides gras, glucose, acides aminés) et donc à un dysfonctionnement des mitochondries en cas de stress.

Ces données suggèrent que, dans le modèle PHF2 SCiKO, il y a une accumulation de MuSCs bloqués au stade d'engagement qui sont incapables de cataboliser les gouttelettes de lipides pour générer l'ATP qui permet aux myocytes mononucléés de fusionner en myotubes. En effet, en raison de l'accumulation anormale de LDs, nous avons pu observer que ces cellules MYOG+LD+ subissent une mort prématurée.

Dans l'ensemble, ces données démontrent que la déméthylase PHF2 est un nouveau modulateur de la décision du destin des cellules souches musculaires.