

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **08 janvier 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur GRAÏES Mohamed**

Titre de la thèse :

Sur le sujet de thèse : « *L'invalidation de H2A.Z dans les cellules souches de la peau entraîne une réponse immunitaire innée médiée par les capteurs cytosoliques d'ADN et une inflammation de la peau* »

Résumé

Les variants d'histones sont des isoformes non alléliques d'histones conventionnelles. Les variants d'histones sont des facteurs épigénétiques clés, ils sont déposés dans la chromatine par des chaperonnes spécifiques et leur incorporation confère de nouvelles propriétés structurales et fonctionnelles à la chromatine. Le variant d'histone H2A.Z appartient à la famille H2A. Les génomes des vertébrés codent deux isoformes H2A.Z, H2A.Z-1 et H2A.Z-2, qui ne diffèrent que par trois acides aminés. H2A.Z est nécessaire à la survie des mouches et des vertébrés, et sa déplétion dans les cellules germinales entraîne un phénotype létal. Il a été trouvé enrichi dans de multiples éléments génomiques, y compris les promoteurs actifs, l'hétérochromatine et les centromères, et on pense qu'il joue un rôle essentiel dans la majorité des événements nucléaires tels que la transcription, la ségrégation des chromosomes, la division cellulaire, la réplication et la réparation de l'ADN.

Pourtant, l'implication de H2A.Z dans essentiellement chacun de ces événements, cruciaux pour le processus nucléaire de la vie cellulaire, est contre-intuitive. En effet, il est difficile d'imaginer comment un variant d'histone pourrait directement, comme le suggère la littérature, par sa simple présence et localisation, participer à toute la série d'événements nucléaires et préserver l'homéostasie nucléaire et le destin de la cellule. Pour expliquer cette apparente contradiction, nous émettons l'hypothèse que H2A.Z est un acteur clé dans une ou

plusieurs propriétés fondamentales du noyau, et que ses altérations, dues à l'absence de H2A.Z, affecteraient l'ensemble de ces événements nucléaires. L'objectif de ce travail est d'identifier cette (ces) propriété(s) du noyau et donc de mettre en lumière la fonction in vivo de H2A.Z. Pour ce faire, nous avons utilisé comme système modèle la peau de souris, puisque que l'épiderme de la souris se divise activement et se renouvelle tous les 21-23 jours. Au cours du renouvellement de l'épiderme, tous les processus nucléaires énumérés ci-dessus sont exécutés et la déplétion de H2A.Z devrait les affecter.

Nous avons utilisé des approches génétiques chez la souris pour épuiser les isoformes H2A.Z-1 et H2A.Z-2 dans les cellules de l'épiderme au douzième jour de l'embryogenèse, cellules qui vont ensuite donner par ségrégation les cellules souches du poil (ou bulge) et ensuite aux cellules souches de la couche basale l'épiderme. Nous avons ensuite étudié comment l'absence de H2A.Z affectait le renouvellement de la peau. Le phénotype résultant a été analysé en détail par des techniques d'immunochimie et de biologie moléculaire et cellulaire combinées à des méthodes épigénétiques de pointe, y compris des approches omiques. La déficience de H2A.Z dans les cellules souches de la peau conduit à un phénotype d'inflammation très fort, comprenant une peau très sèche et rouge, une desquamation, un retard dans l'émergence des poils, une hypokinésie et des défauts de croissance, entraînant la mort prématurée de l'animal. Les données d'ARN-seq et de microscopie à immunofluorescence ont révélé que les trois principales voies cytosoliques de détection de l'ADN, à savoir cGAS-STING, AIM2 et Toll-like receptor, étaient fortement activées en réponse à la déplétion de H2A.Z dans les cellules souches de la couche basale de l'épiderme. Les voies cytosoliques de détection de l'ADN ont été déclenchées par la présence du self-DNA libéré du noyau des cellules déplétées en H2A.Z, reflétant l'augmentation des défauts de mitose et de division cellulaire (y compris les micronoyaux), l'accumulation des R-loops et le blocage des fourches de réplication, ainsi que la dérégulation de rétro-éléments endogènes distincts. Il est important de noter que les observations de microscopie électronique révèlent des perturbations dans la structure de l'épiderme dépourvu de H2A.Z, y compris celle des mitochondries dont l'organisation est fortement altérée.

Cette réponse énergétique du système immunitaire inné entraîne la synthèse d'interférons, l'activation des gènes répondant à l'interféron et un phénotype d'inflammation important. Ce mécanisme épigénétique unique, qui explique la dialectique entre H2A.Z,

l'immunité innée et l'inflammation dans le renouvellement de la peau, identifie H2A.Z comme un gardien épigénétique majeur de l'intégrité du génome, qui joue un rôle clé dans la préservation de l'homéostasie du noyau.