

LE DOMAINE KUNITZ DANS L'EBD : DE L'OUBLI FONCTIONNEL À LA PREUVE EXPÉRIMENTALE



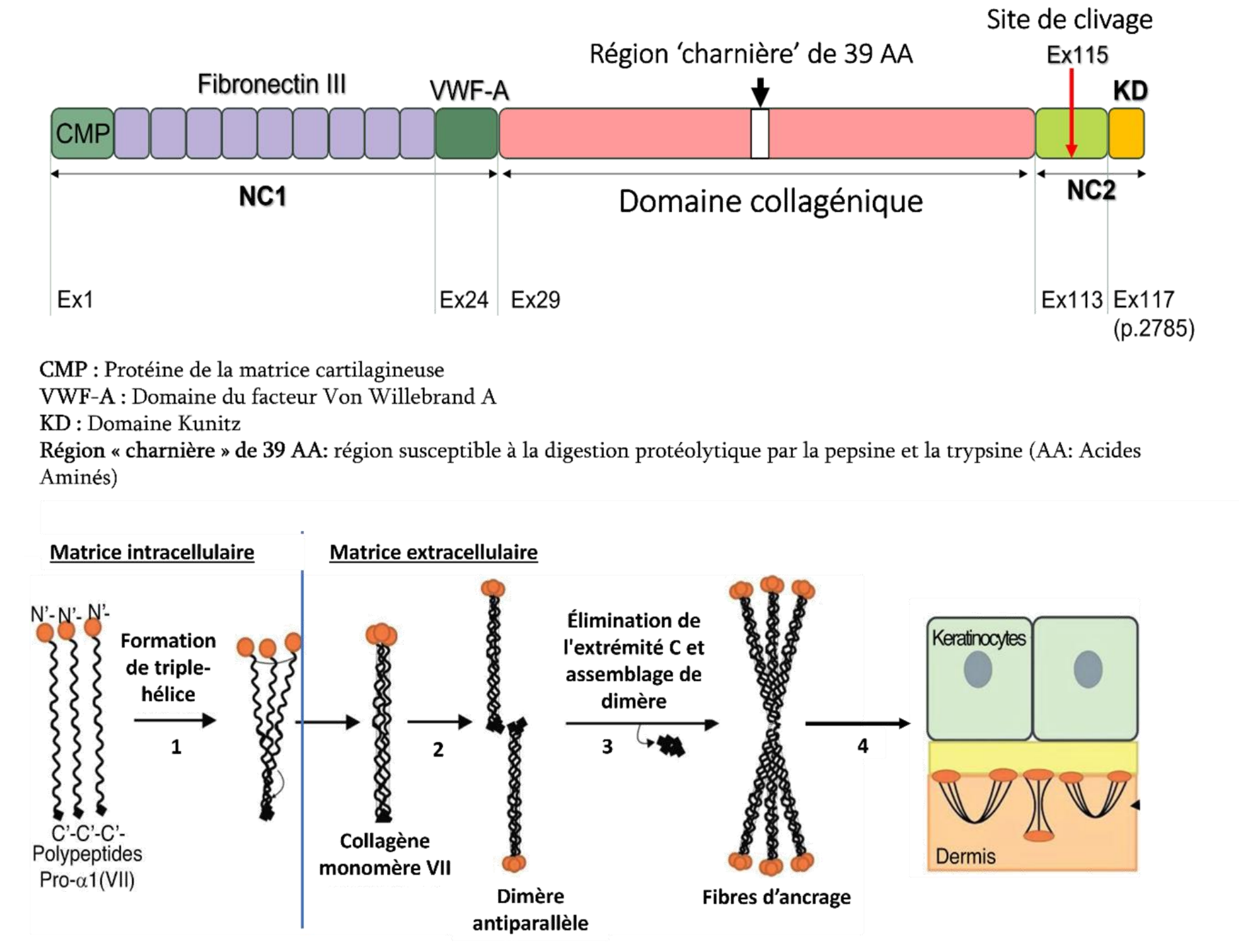
1^{er} Auteur : Haifa, EL MABROUK, PhD, Chercheuse Postdoctoral, Dermatologie Moléculaire, Université de Freiburg, Freiburg, Allemagne et Service de Génétique, Hôpital Universitaire Farhat HACHED, Sousse, TUNISIE - (hayphaamabrouk@gmail.com)

Autres auteurs, équipe:

- Beyza, SALIHA SAYAR, PhD, Chercheuse Postdoctoral, Dermatologie Moléculaire, Université de Freiburg, Freiburg, ALLEMAGNE
- Dorra, H'MIDA, Prof. MD., Service de Génétique, Hôpital Universitaire Farhat HACHED, Sousse, TUNISIE
- Alexander, NYSTROM, PhD, Chef de groupe, Dermatologie Moléculaire, Université de Freiburg, Freiburg, ALLEMAGNE
- Cristina, HAS, Prof. MD., Dermatologie Moléculaire, Université de Freiburg, Freiburg, ALLEMAGNE

Introduction:

L'épidermolyse bulleuse dystrophique (EBD) est une génodermatose rare causée par des variants du gène **COL7A1**, codant pour la chaîne $\alpha 1$ du collagène VII (C7), composant clé des fibrilles d'ancrage de la jonction dermo-épidermique. Le domaine **Kunitz (KD)**, situé dans la région C-terminale NC2, est classiquement considéré comme biologiquement inactif, car clivé lors de l'assemblage des fibrilles



Patients et variants:

Deux patients porteurs de variants affectant le KD présentent un phénotype concordant :

- Un garçon tunisien de 2 ans (variant synonyme d'épissage cryptique + C2912Y homozygote) : bulles spontanées, érosions pré-tibiales, dystrophie unguéale
- Une adolescente allemande de 15 ans (R185X hétérozygote + Y2909C hétérozygote) : bulles localisées aux zones de friction, atteinte unguéale

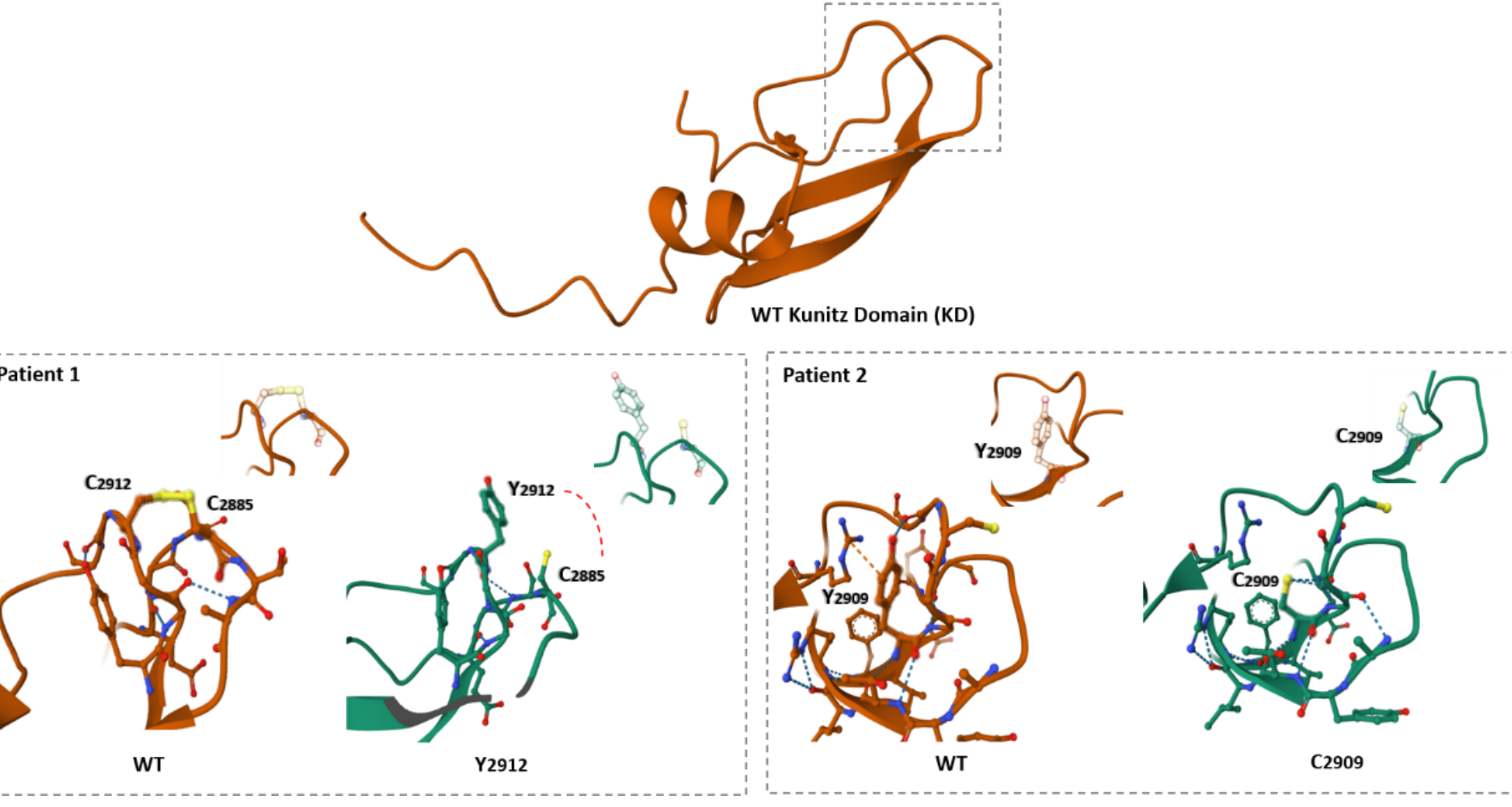


Domaine de Kunitz (KD):
SDDPC^CSLPLDEGSC²TAYTLRWYHRAVTGSTEA C³HPFVYGG C⁴GGNANRFGTREA C⁵ERRC⁶PPRVVQSQGTGTAQD
p.Cys2912Tyr
p.Tyr2909Cys

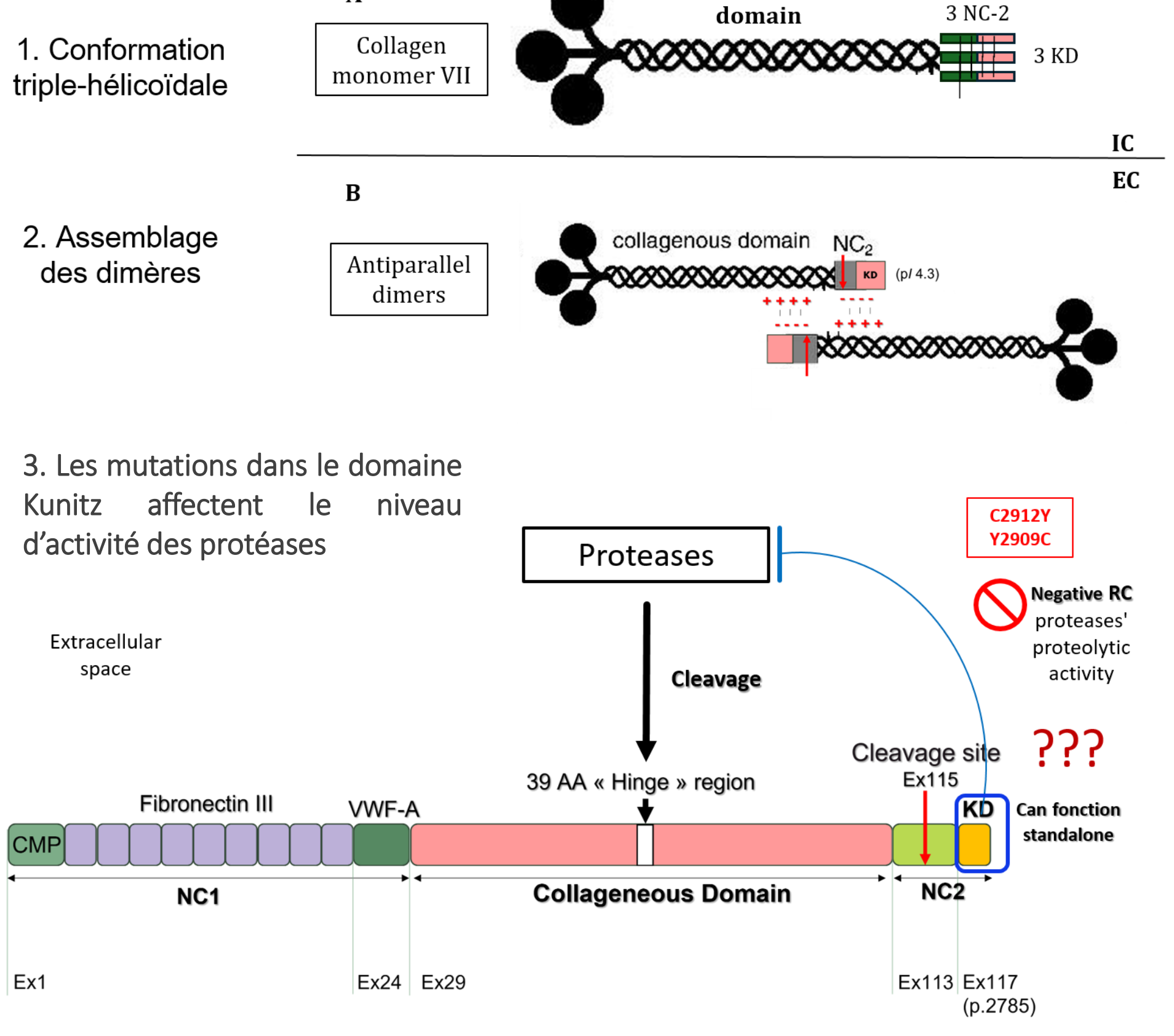
Impact structural des mutations : modélisation 3D :

La modélisation tridimensionnelle suggère que ces mutations altèrent la conformation du KD et de la protéine C7:

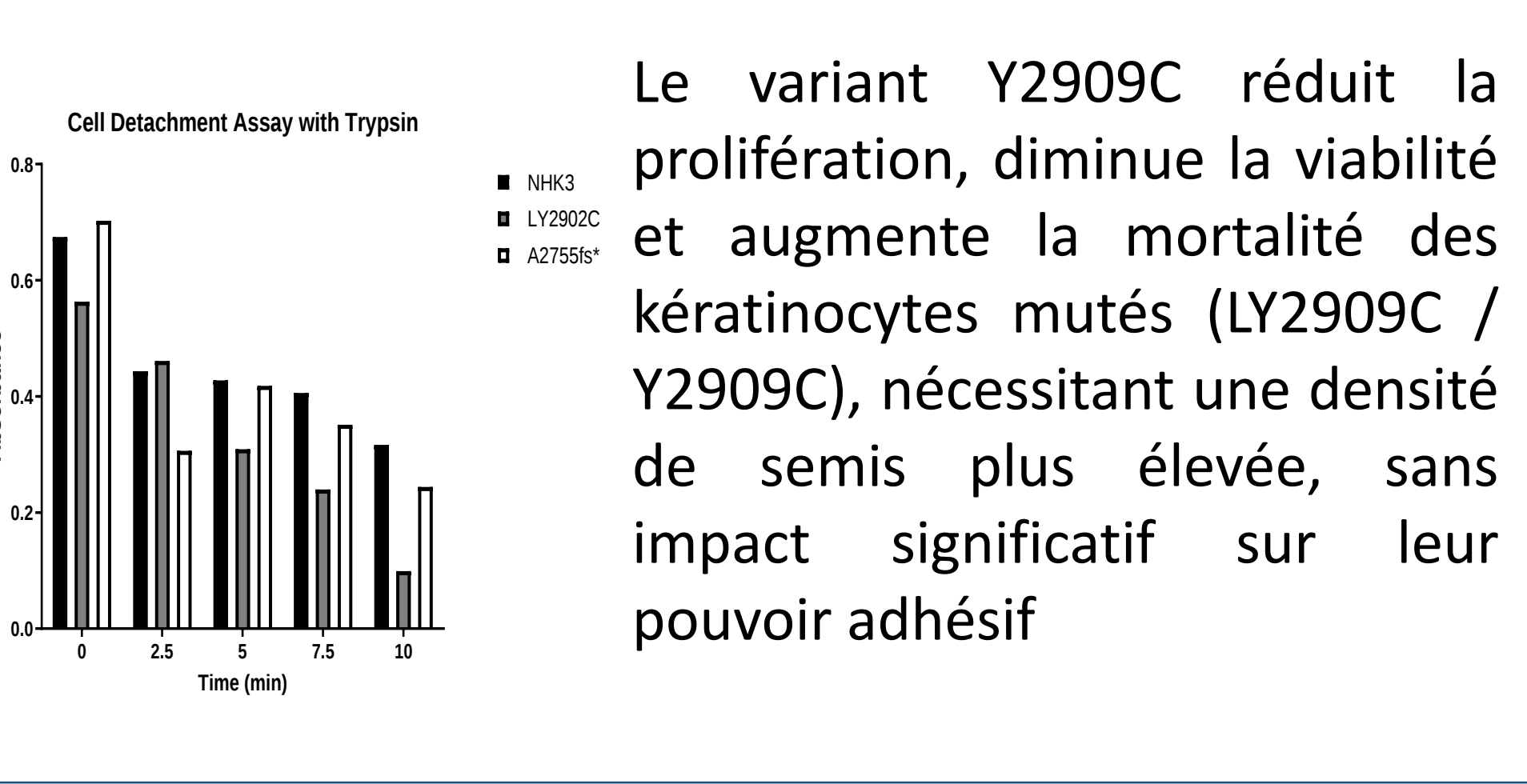
- C2912Y : Rupture d'un pont disulfure → instabilité du domaine conservé
- Y2909C : Cystéine libre → agrégation et formation de ponts disulfure non spécifiques



Hypothèses:



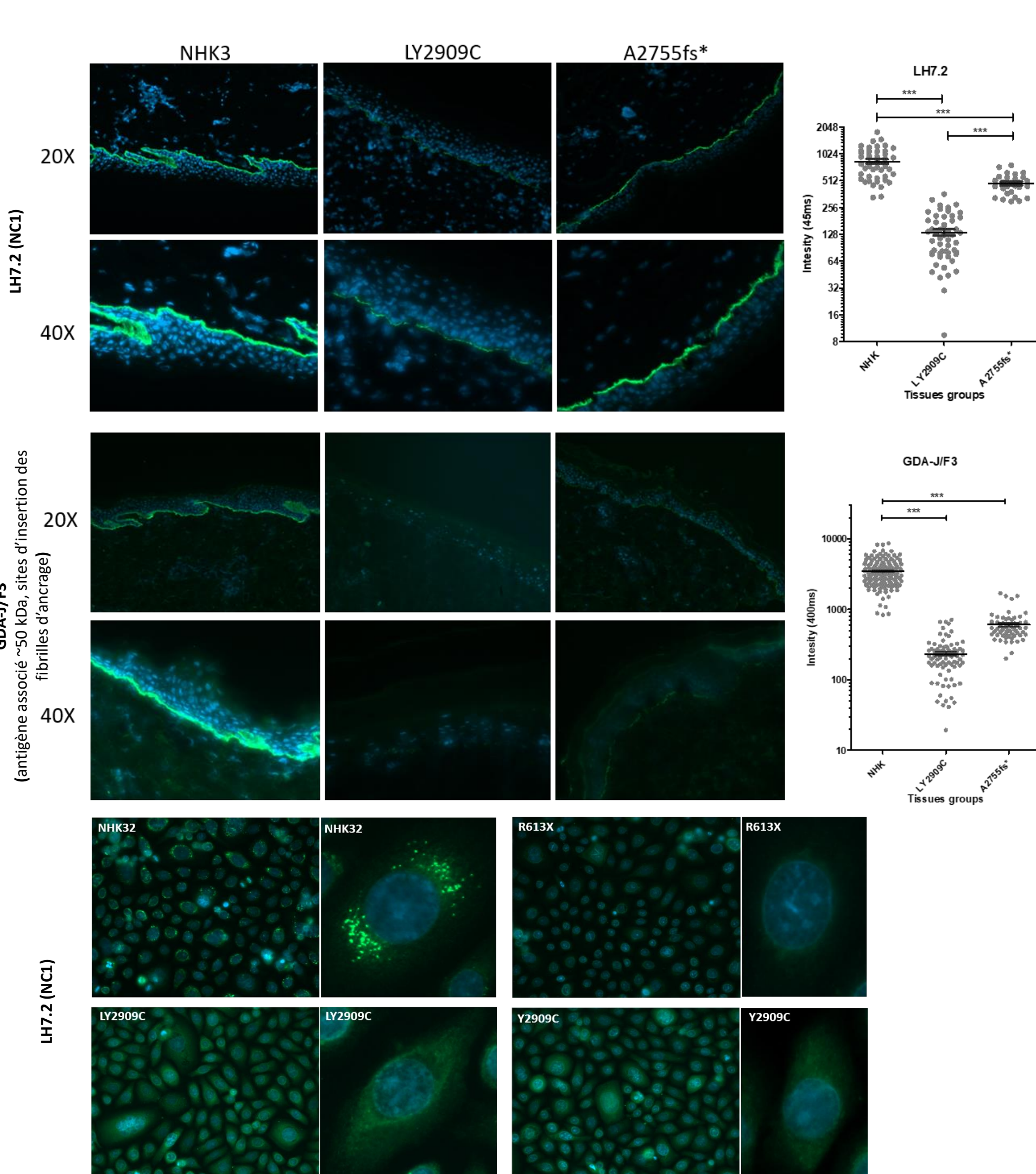
Phénotypes cellulaires altérés:



Expression réduite et dégradation accrue du collagène VII:

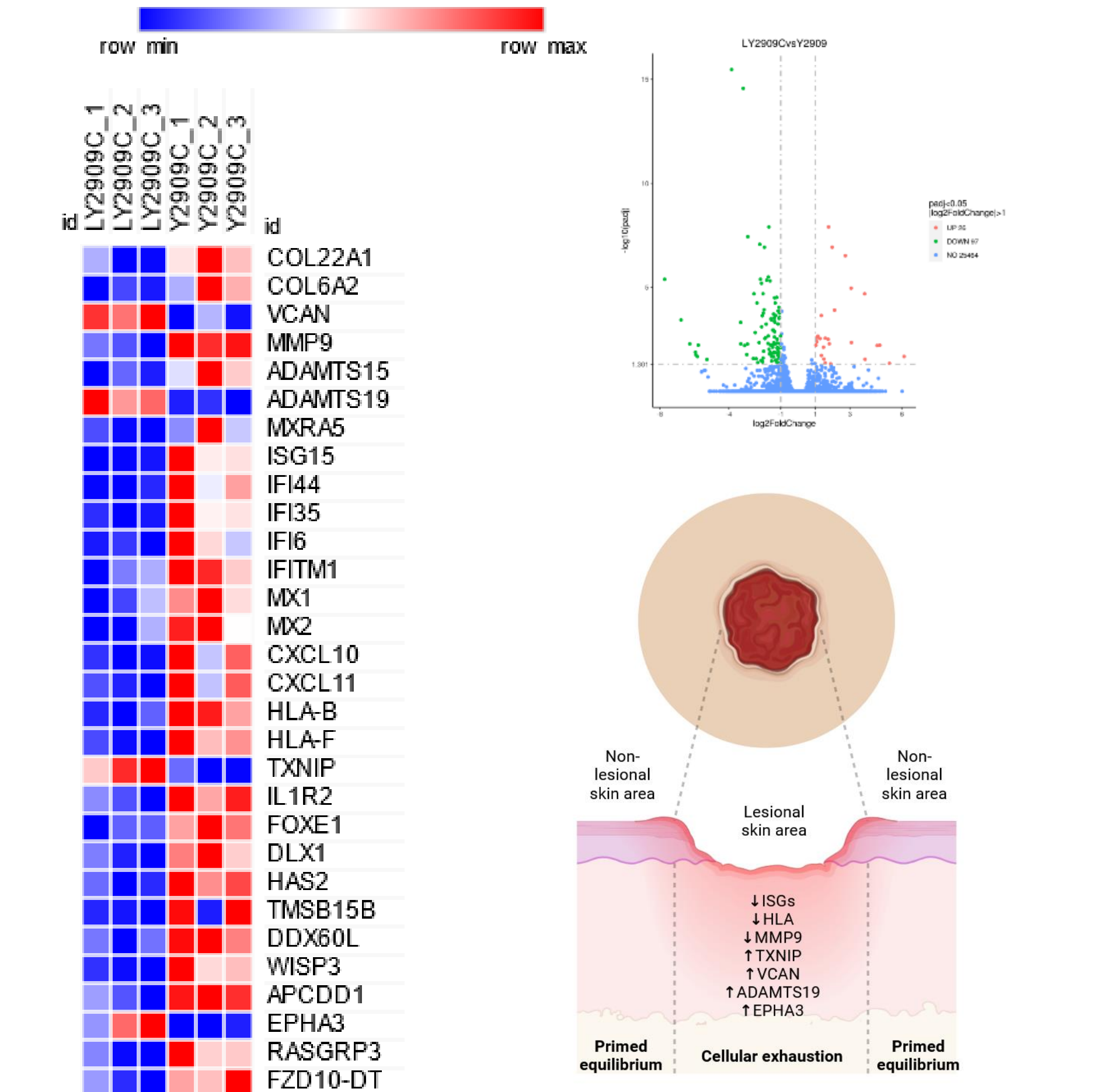
L'immunofluorescence sur cryocoupes a montré, avec LH7.2, une réduction du signal du collagène VII à 15 % dans la peau lésée Y2909C, et avec GDA-J/F3, une quasi-absence de fluorescence (6,63 %). Ces données indiquent une désorganisation majeure des fibrilles d'ancrage, compromettant la stabilité de la jonction dermo-épidermique.

Dans les kératinocytes normaux (NHK32), le signal LH7.2 est périnucléaire et ponctiforme, tandis que dans les lignées mutées LY2909C et Y2909C il est diffus et atténué, suggérant une accumulation intracellulaire de C7 mal conformé, retenu dans le réticulum endoplasmique, dégradé par la voie ERAD/protéasome et associé à l'activation de la réponse UPR (Unfolded Protein Response)



Stress cellulaire et réponses compensatoires dans les kératinocytes mutants:

Le profil transcriptomique des kératinocytes distingue nettement la peau non lésionnelle (Y2909C) de la peau lésionnelle (LY2909C). Les cellules Y2909C conservent une expression intacte de la MEC et une signalisation interféron active, traduisant un état compensatoire. Les cellules LY2909C présentent au contraire une perte des gènes structuraux, une suppression de l'immunité innée et une induction de marqueurs fibrosants et de stress oxydatif

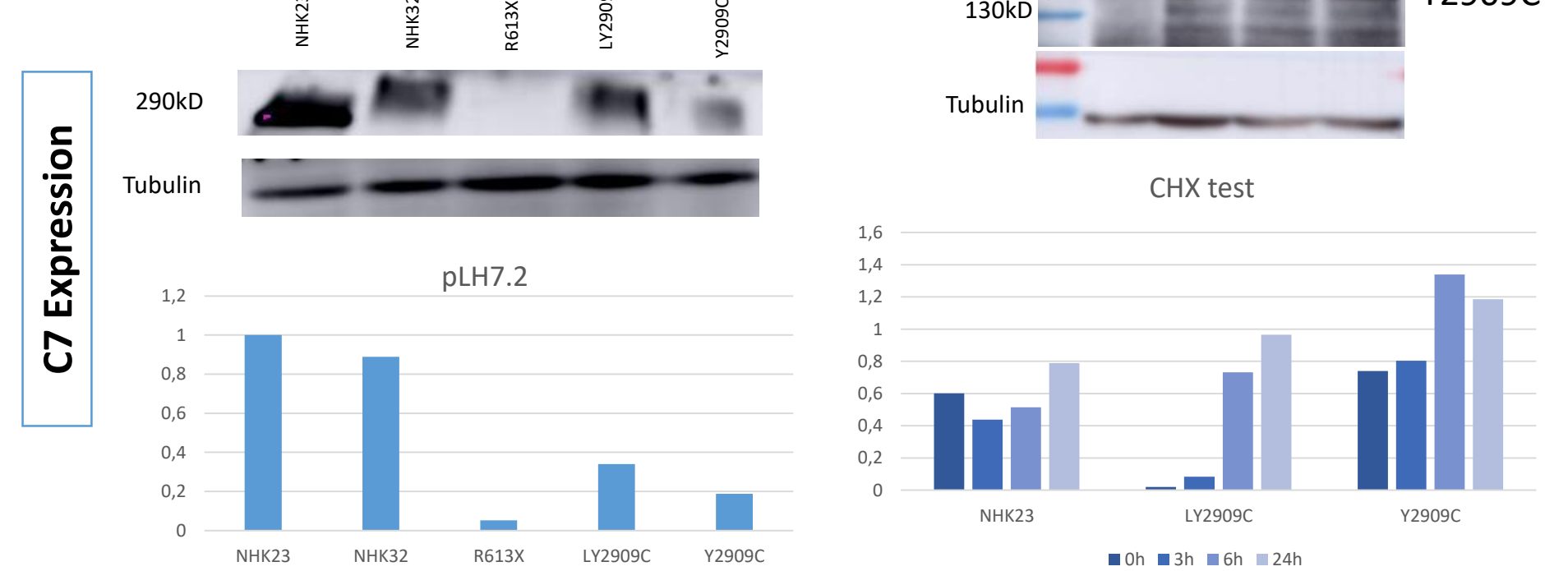


Expression réduite et dégradation accrue du collagène VII:

La détection du collagène VII (C7) par Western blot demeure difficile en raison de son expression basale très faible dans les kératinocytes normaux, de sa sécrétion rapide et de sa taille très élevée (290 kDa).

L'immunoblot avec l'anticorps pLH7.2 (NC1-C7) sur cellules immortalisées a montré une diminution marquée de l'expression de C7 : -60 % dans LY2909C et -80 % dans Y2909C, comparativement au témoin NHK23.

Le cycloheximide (CHX) chase assay a révélé une dégradation stable du C7 dans NHK23, tandis qu'une dégradation nettement accrue a été observée dans LY2909C et Y2909C, indiquant une élimination préférentielle via la voie ERAD/protéasome et l'activation de la réponse UPR



Conclusion:

Nos résultats montrent que les variants du domaine Kunitz perturbent le repliement et la stabilité du collagène VII, provoquant sa rétention intracellulaire, sa dégradation via ERAD/protéasome et l'activation de la réponse UPR. Ces données suggèrent un rôle essentiel du KD, jusqu'ici considéré inactif, dans la biogenèse du collagène VII et l'intégrité de la jonction dermo-épidermique

Acknowledgments

