

THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : Biologie Cellulaire, Biologie du Développement

Par

Mary Adel MRAD

Role of NET1 in vascular smooth muscle cells' mechanotransduction

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 17 Décembre 2025

Unité de recherche : L'Institut du Thorax, INSERM UMR1087 – CNRS UMR 6291

Rapporteurs avant soutenance :

Nicolas BORGHI Directeur de recherche, Université Paris Cité (UMR7592)
Damien RAMEL Chargé de recherche, Université de Toulouse (UPS UMR 1297)

Composition du Jury :

Président :	Catherine COIRAUT	Directrice de recherche, Sorbonne Université (UMR-S 974)
Examinateurs :	Nicolas BORGHI Damien RAMEL Catherine COIRAUT Catherine LEMARIE	Directeur de recherche, Université Paris Cité (UMR7592) Chargé de recherche, Université de Toulouse (UPS UMR 1297) Directrice de recherche, Sorbonne Université (UMR-S 974) Chargée de recherche, Université de Brest (UMR 1304)
Dir. de thèse :	Gervaise LOIRAND	Directrice de recherche, INSERM UMR1087/ CNRS UMR6291
Co-dir. de thèse :	Anne-Clémence VION	Chargée de recherche, INSERM UMR1087/ CNRS UMR6291

Invité Romain CAPOULADE Chargé de recherche, INSERM UMR1087/ CNRS UMR6291

Titre : Rôle de NET1 dans la mécanotransduction des cellules musculaires lisses vasculaires

Mots clés : NET1, cellule musculaire lisse vasculaire, étirement mécanique, facteur d'échange nucléotidique, mécanotransduction.

Résumé : Les forces hémodynamiques sont des régulateurs essentiels du développement et de l'homéostasie vasculaire. Au sein de la paroi artérielle, l'étirement cyclique généré par la pression sanguine pulsatile est principalement perçu par les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV), qui ajustent leurs activités contractiles et synthétiques afin de maintenir le tonus vasculaire et l'intégrité structurale du vaisseau. Lorsque ces signaux mécaniques sont altérés, ils peuvent induire des processus de remodelage délétères associés aux pathologies vasculaires, telles que l'hypertension. Parmi les voies de signalisation impliquées dans l'adaptation des CMLV au stress mécanique, RhoA joue un rôle central dans l'organisation du cytosquelette et la contractilité cellulaire. Cependant, les facteurs d'échange nucléotidiques (GEFs) mécanosensibles responsables de l'activation de RhoA dans les CMLV demeurent mal caractérisés.

Le séquençage ARN réalisé sur des artères normotendues et hypertendues, ainsi que sur des CMLV soumises à différents niveaux d'étirement cyclique, a permis d'identifier NET1/ARHGEF8 comme un GEF potentiellement mécanosensible. Dans les CMLV, un étirement physiologique (10 % d'élongation) augmente l'expression de NET1, favorise sa localisation cytoplasmique et renforce son interaction avec RhoA. L'inhibition de NET1 réduit la phosphorylation de MYPT1 et altère l'adhésion et l'étalement cellulaire sans affecter la prolifération. À l'inverse, la localisation forcée de NET1 dans le cytoplasme augmente l'expression des marqueurs contractiles et potentialise la contraction spontanée et induite par un agoniste, tandis que sa rétention nucléaire diminue ces effets. Ces résultats établissent NET1 comme un GEF mécanosensible potentiel jouant un rôle clé dans la physiologie des CMLV.

Title : Role of NET1 in vascular smooth muscle cells' mechanotransduction

Keywords : NET1, vascular smooth muscle cell, mechanical stretch, guanine nucleotide exchange factor, mechano-transduction

Abstract: Hemodynamic forces are essential regulators of vascular development and homeostasis. Within the arterial wall, cyclic stretch generated by pulsatile blood pressure is primarily sensed by vascular smooth muscle cells (VSMCs), which regulate their contractile and synthetic activities to maintain vessel tone and structural integrity. When these mechanical cues are altered, they can trigger deleterious arterial wall remodeling processes associated with vascular diseases, such as hypertension. Among the signaling pathways governing VSMC adaptation to mechanical stress, RhoA plays a pivotal role in controlling cytoskeletal organization and contractility. Yet, the upstream mechanosensitive guanine nucleotide exchange factors (GEFs) that regulate RhoA activation in VSMCs remain poorly defined. RNA sequencing of normotensive and hypertensive arteries, as well as VSMCs subjected to varying levels of cyclic stretch,

identified NET1/ARHGEF8 as a potential mechanosensitive GEF. In VSMCs, physiological stretch (10% elongation) increased NET1 expression, promoted its cytoplasmic relocalization, and enhanced its interaction with RhoA. Silencing NET1 decreased MYPT1 phosphorylation and impaired cell adhesion and spreading without affecting proliferation. Conversely, forced cytoplasmic localization of NET1 increased the expression of contractile markers and enhanced both spontaneous and agonist-induced contraction, whereas nuclear retention of NET1 diminished these effects. Collectively, these findings establish NET1 as a potential stretch-sensitive RhoGEF that plays a role in VSMC physiology.