Résumé Habilitation à Diriger des Recherches

Les forces mécaniques jouent un rôle majeur dans la biologie des cellules vasculaires. En effet, les cellules endothéliales et les cellules murales, tel que les cellules musculaires lisses, subissent des contraintes mécaniques liées au flux sanguin et à sa pulsativité. Ces cellules sont donc équipées pour percevoir des forces hémodynamiques et y répondre. Mon travail de recherche depuis mon doctorat s'est attaché à comprendre les conséquences biologiques de ces forces et par quels mécanismes cellulaires elles étaient médiées.

En premier lieu, mes travaux de thèses ont porté sur l'étude du rôle des flux sanguins physiologique et pathologiques sur le relargage de microvésicules, élément vésiculaires messagers. J'ai ainsi mis en évidence que les conditions de flux physiologiques limitent la formation des microvésicules endothéliales grâce à la stabilisation du réseau d'actine cortical et à la répression d'ABCA1. Au contraire, un flux pathologique augmente cette formation de micro-vésicules via l'activation des voies Rho-kinases. Ces résultats ont été les premiers à montrer que le flux sanguin régule la production de microvésicules *in vitro* et *in vivo*. Un deuxième axe de mon travail a permis d'identifier que l'autophagie, activée par le flux sanguin physiologique, prévient l'inflammation, la sénescence et l'apoptose des cellules endothéliales, limitant ainsi la formation des plaques athéromateuses.

Il est bien établi que l'hémodynamique participe aux fonctions de nos vaisseaux dans un organisme mature mais de nombreux travaux pointent également son rôle dans la formation de ce réseau vasculaire, lors de l'angiogenèse. Lors de mon post-doctorat, j'ai ainsi montré pour la première fois que le cil primaire endothélial permet la coordination entre flux sanguin et polarité endothéliale lors de l'angiogenèse. Il joue un rôle majeur dans la transmission du signal BMP9/10 pour maintenir ouvert les vaisseaux immatures soumis à de faibles flux et empêcher leur régression prématurée avant la mise en place d'un réseau vasculaire mature à contrainte de cisaillement élevée.

Fort de ces expériences, j'ai souhaité continuer d'explorer le rôle de l'hémodynamique en physiopathologie vasculaire humaine en travaillant notamment sur l'anévrisme intracrânien où ces forces jouent un rôle central. Aujourd'hui, Il n'existe malheureusement aucun outil de diagnostic pour prédire la formation ou le devenir d'un anévrisme chez un individu donné. Les traitements actuels sont invasifs, chirurgicaux ou endovasculaires, avec un risque significatif de morbidité procédurale. Les mécanismes cellulaires et moléculaires responsables de leur formation et de leur rupture ne sont actuellement pas élucidés. Mes travaux actuels et mes futurs projets œuvrent donc à combler ces lacunes en offrant un nouvel angle de recherche sur cette pathologie. En effet, La plupart des études actuellement menées portent sur les traitements symptomatiques et sur la rupture des anévrismes déjà formés mais pas sur les événements précoces, à l'origine de sa formation.

Mon projet se présente en deux axes. Le premier porte sur l'identification de nouvelles protéines RhoGEF mécanosensibles. Régulateurs majeurs du cytosquelette d'actine et effecteurs de nombreuses molécules d'adhésion, les protéines G monomériques de la famille Rho sont reconnues comme des acteurs incontournables de la mécanosensibilité et de la mécanotransduction. L'activation de ces protéines en réponse à un stimulus extracellulaire est catalysée par plusieurs facteurs d'échange (GEF, guanine nucleotide exchange factor) et ceux activés par des stimuli mécaniques dans les cellules vasculaires sont encore mal connus. Mon hypothèse de travail est qu'une hémodynamique anormale ou une perte de sensibilité des cellules vasculaire aux forces présentes localement conduit à une dérégulation des voies de

signalisation des protéines Rho, rendant les cellules incapables de s'adapter correctement aux contraintes mécaniques et contribuant ainsi à la formation des anévrismes. Mes objectifs spécifiques sont donc 1) d'identifier les GEFs régulés par les forces hémodynamiques dans les cellules endothéliales et musculaires lisses, 2) de comprendre leur rôle dans les différentes fonctions des cellules vasculaires *in vitro* et 3) d'évaluer *ex vivo* et *in vivo* leur implication dans le développement des anévrismes intracrâniens. Nous avons ainsi déjà mis en évidence qu'ARHGEF18 est un RhoGEF mécano-sensible. Il régule l'orientation des cellules endothéliales dans le sens du flux ainsi que la formation des jonctions serrées via son interaction directe avec ZO-1 et Claudine5. Cette fonction contribue à maintenir un réseau vasculaire étanche et l'absence d'ARHGEF18 endothéliales *in vivo* conduit à des fuites vasculaires localisées.

Le second axe de mon travail combine mon expertise en biologie vasculaire en réponse au flux et l'opportunité d'avoir accès à des échantillons biologiques, données cliniques et génétiques de patients porteurs d'anévrismes via la cohorte ICAN. L'étude génétique de formes familiales d'anévrismes nous a déjà permis d'identifier deux variants rares associés à la survenue de la pathologie, variants dont nous étudions actuellement le rôle fonctionnel.

Nous savons aujourd'hui que le dysfonctionnement des cellules endothéliales joue un rôle central dans l'initiation et la progression de l'anévrisme intracrânien mais l'accès à des cellules endothéliales cérébrales natives de patients est impossibles. L'idée serait donc de se servir de cellules endothéliales dérivées d'iPSC de patients atteints d'anévrisme comme d'une plateforme pour modéliser la susceptibilité à l'anévrismes intracrânien *in vitro*. Les grandes étapes de cet axe sont donc de combiner 1) l'utilisation de cellules endothéliales d'iPSC obtenues à partir de patients ICAN avec 2) des approches *in vitro* intégrant les particularités hémodynamiques des sites où se forme l'anévrisme intracrânien, et 3) la génération de nouveaux modèles murins pertinents, pour réunir deux composantes essentielles de la maladie : les facteurs génétique et l'influence de l'environnement.

Ces projets reposent sur la combinaison d'approches *in vitro* et *in vivo* complémentaires. Les résultats de mes travaux sur les anévrismes et les artères cérébrales auront des applications plus générales en physiologie et physiopathologie vasculaire car les mécanismes de réponse aux forces hémodynamiques sont un point central dans la biologie du vaisseau. Les avancées scientifiques et techniques obtenues sur les deux axes de recherche permettront, à terme de fusionner ces approches en un seul programme de recherche. Au-delà du contexte des anévrismes intracrâniens, le développement de nouveaux modèles ciblant les RhoGEFs présente un intérêt majeur en cardiovasculaire, mais également pour l'étude plus générale de la fonction des RhoGEFs et des voies de signalisation des protéines Rho *in vivo* à un niveau physiologique intégré.