

M.Talagas^(1,2), N. Lebonvallet⁽¹⁾, R. Leschiera⁽¹⁾, G. Sinquin⁽³⁾, P. Elies⁽³⁾, M. Haftek⁽⁴⁾, JP. Pennec⁽⁵⁾, D. Ressnikoff⁽⁶⁾, V. La Padula⁽⁷⁾, R. Le Garrec⁽¹⁾, K. L'hérouelle⁽¹⁾, O. Mignen⁽⁸⁾, L. Le Pottier⁽⁸⁾, N. Kerfant⁽⁹⁾, A. Reux⁽¹⁾, P. Marcorelles^(1,2), L. Misery^(1,10)

⁽¹⁾ Laboratoire Interactions Epithéliums Neurones (EA 4685), Université de Bretagne Occidentale
⁽²⁾ Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU Brest
⁽³⁾ Plateforme d'Imagerie et de Mesures en Microscopie, Université de Bretagne Occidentale
⁽⁴⁾ Laboratoire de Biologie tissulaire et Ingénierie Thérapeutique (UMR 5305), Université Lyon 1
⁽⁵⁾ Mouvement, Sport, Santé (EA 1274), Université de Bretagne Occidentale
⁽⁶⁾ Centre d'Imagerie Quantitative Lyon-Est, INSERM US 7 – CNRS UMS 3453, Université Lyon 1
⁽⁷⁾ Centre Technologique des Microstructures, Université Lyon 1
⁽⁸⁾ Lymphocyte B et autoimmunité (UMR 1227), Université de Bretagne Occidentale
⁽⁹⁾ Service de Chirurgie Plastique, Reconstrictrice et Esthétique, CHRU Brest
⁽¹⁰⁾ Service de Dermatologie, CHRU Brest

INTRODUCTION

La température, la douleur et le prurit sont classiquement considérés comme étant exclusivement perçus par les fibres nerveuses intra-épidermiques (FNE). Alors que des études récentes ont démontré que les kératinocytes épidermiques participent également à la transduction sensorielle cutanée, le mécanisme qui sous-tend la communication entre les kératinocytes et les FNE reste méconnu. Les kératinocytes ayant une origine ectoblastique, comme le système nerveux, et descendant de cellules souches communes aux cellules de Merkel, nous avons émis l'hypothèse que les kératinocytes épidermiques pourraient communiquer avec les neurones sensoriels via des structures de type synaptique, à l'image des cellules de Merkel.

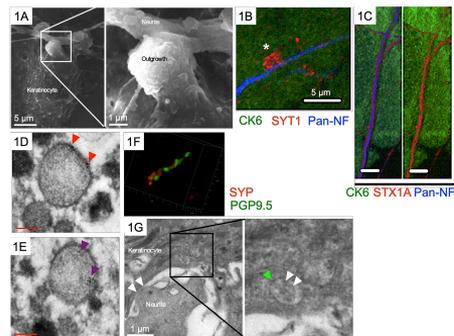
MATERIEL ET METHODES

Les contacts neuro-kératinocytaires ont été explorés dans un modèle de co-culture associant des kératinocytes épidermiques humains et des neurones sensoriels de rats grâce à une triple approche morphologique (microscopie électronique à balayage, microscopie confocale (MC), microscopie électronique à transmission (MET), immuno-MET), moléculaire (RT-qPCR, western-blot) et fonctionnelle (patch clamp, imagerie calcique). Trois marqueurs synaptiques

génériques ont été étudiés : la synaptophysine (SYP) et la synaptotagmine 1 (SYT1), protéines membranaires vésiculaires, et la syntaxine 1A (STX1A), protéine de la membrane plasmique. La STX1A, une protéine SNARE, et la SYT1 sont des molécules clés requises pour l'exocytose vésiculaire. La présence dans l'épiderme humain des structures observées *in vitro* a été recherchée sur des biopsies cutanées humaines par une étude en microscopie corrélative associant MC et MET.

RESULTATS

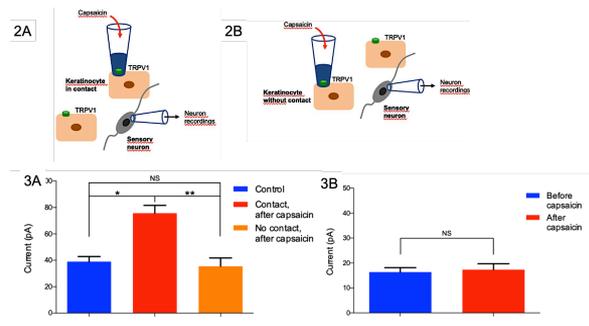
Nous avons pu identifier des excroissances kératinocytaires enlaçant les neurites (Fig. 1A), mesurant 3 à 5 µm de grand axe, indistinctement positives pour la SYP et la SYT1 (Fig. 1B). La STX1A était quant à elle exprimée à l'interface neuro-kératinocytaire (Fig. 1C). Ces excroissances étaient limitées par la membrane plasmique kératinocytaire, avec des vésicules SYP+ (Fig. 1D) et SYT1+ (Fig. 1E) présentes à leur base, dans le cytoplasme kératinocytaire.



Sachant que les kératinocytes épidermiques humains expriment le récepteur TRPV1, activable par la capsaïcine, principe actif du piment, nous avons appliqué de façon étanche de la capsaïcine sur des kératinocytes en contact avec les neurones (Fig. 2A) et des kératinocytes proches des neurones, mais sans contact (Fig. 2B).

Les courants neuronaux n'augmentaient significativement qu'après l'application de capsaïcine sur les kératinocytes en contact, démontrant que les contacts neuro-kératinocytaires sont fonctionnels, nécessaires et suffisants pour transmettre une information afférente (Fig. 3A).

Lorsque les kératinocytes en contact avec les neurones étaient préalablement électroporés avec la chaîne légère recombinante de la toxine botulique C, qui clive la STX1A, l'augmentation des courants neuronaux n'était plus observée (Fig. 3B). Ces résultats démontrent qu'une exocytose vésiculaire SNARE-dépendante est requise pour transmettre une information des kératinocytes aux neurones sensoriels.



CONCLUSION

Nous démontrons, dans cette étude, que les kératinocytes dialoguent avec les neurones sensoriels par l'intermédiaire de contacts « en passant » de type synaptique. Ces contacts ont les caractéristiques ultrastructurales et les caractéristiques moléculaires de synapses chimiques, véhiculant des informations sensorielles des kératinocytes vers les neurones sensoriels par l'intermédiaire d'une exocytose médiée par des complexes SNARES. Le renouvellement permanent de l'épiderme, qui implique une structure spécifique de type « en passant » ainsi qu'une grande plasticité, pourrait avoir retardé leur identification, contribuant par conséquent à la pérennité du concept de fibres nerveuses intra-épidermiques cheminant librement entre les kératinocytes. En assurant une communication sélective entre les kératinocytes et les neurones sensoriels, ces contacts synaptiques pourraient être le pivot d'un récepteur à deux sites, l'un kératinocytaire et l'autre neuronal. La découverte de ces contacts neuro-kératinocytaires de type synaptique pourrait amener à reconsidérer les concepts établis au sujet de la perception sensorielle cutanée, et invite à porter un regard nouveau sur la physiopathologie de la douleur et du prurit, aussi bien que sur la physiologie du toucher.