

# Comment la souris permet de décrypter la physiopathologie des atteintes cutanées du Complexe de Carney



Equipe "Physiopathologie moléculaire de la surrénale et des tissus endocrines"  
A. Martinez & P. Val

COLLOQUE RECHERCHE  
FIRENDO - 7<sup>ème</sup> ÉDITION -

MODÈLES EXPÉRIMENTAUX :  
NOUVEAUX HORIZONS POUR  
LES MALADIES RARES ENDOCRINIENNES

MARDI 5 DÉCEMBRE 2023

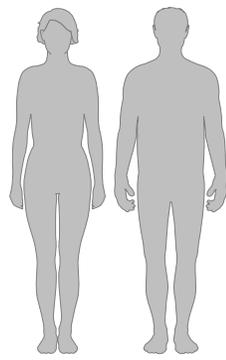


# Le Complexe de Carney (CNC)

Maladie génétique rare

Mutations inactivatrices du gène **PRKAR1A (R1 $\alpha$ )**

~~R1 $\alpha$~~   $\rightarrow$   $\nearrow$  **Activité PKA**



## Principales manifestations cliniques du complexe de Carney

(Stratakis, 2016, Correa et al, 2015, Espiard et al, 2020)

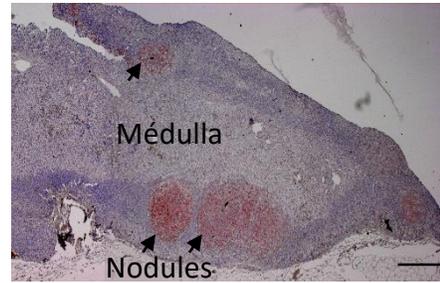
### Manifestations endocrines

- **Dysplasie micronodulaire pigmentée des surrénales/ PPNAD** 45-68%  
(Primary Pigmented Nodular Adrenocortical Dysplasia)



**Syndrôme de Cushing**

(hypercortisolisme, ACTH-indépendant)



### Autres manifestations

- **Myxomes cardiaques** 23-72%

- **Tumeurs Testiculaires /LCCSCT** 35-56%  
(Large-cell calcifying Sertoli cell tumor)

- **Pigmentation anormale de la peau** 56-75%  
*Critère majeur de diagnostic*

- **Lésions ovariennes** 14%

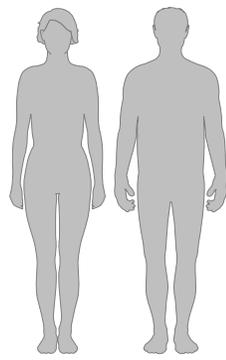
- **Myxomes cutanés** 20-45%

- **Tumeurs hypophysaires, Tumeurs thyroïdiennes** ->70%

*Causes atteintes cutanées?*

# Manifestations cutanées du Complexe de Carney

(Stratakis, 2016; Horvath, 2009; Mateus, 2008; Kirschner, 2022)



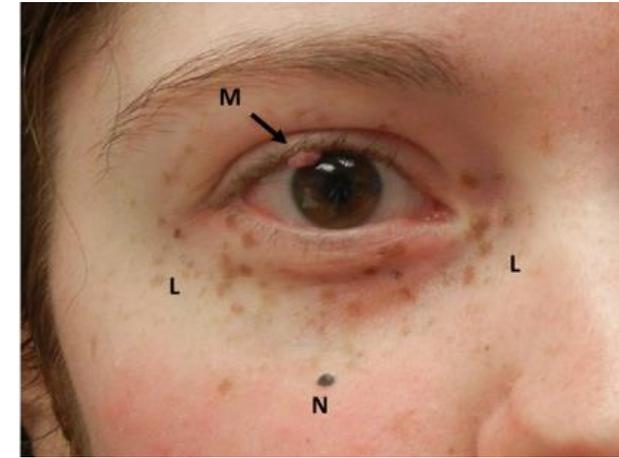
➤ **Pigmentation anormale de la peau** 56-75%

➤ **Myxomes cutanés** 20-45%

**Pigmentation tachetée de la peau /  
Lentigines**



**Nævi noir/Bleu**



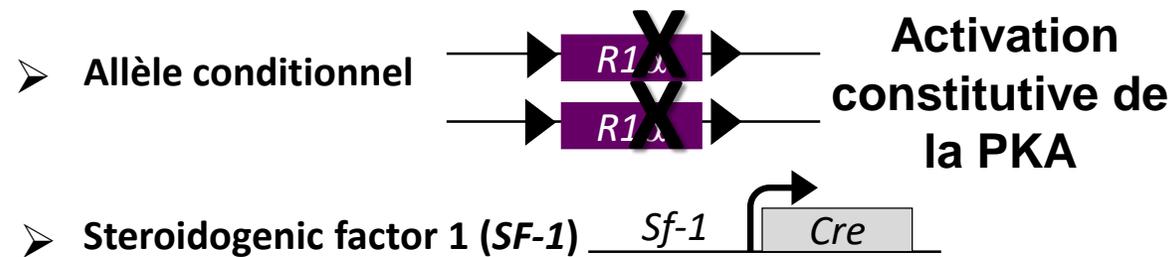
**Localisations particulières de cette pigmentation peau/muqueuses:**

- ✓ joues
- ✓ Le vermillon des lèvres
- ✓ Oreilles, paupières
- ✓ Organes génitaux

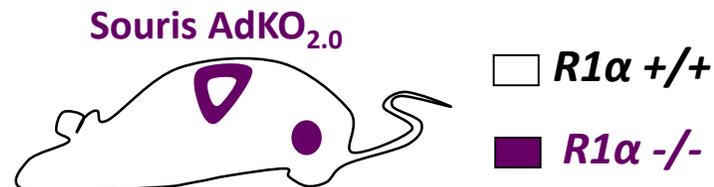
**Localisations des myxomes:**

- ✓ Oreilles, paupières
- ✓ Mamelons
- ✓ Organes génitaux

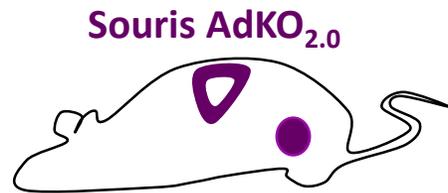
## Modèle animal du Complexe de Carney : Invalidation ciblée/ KO conditionnel



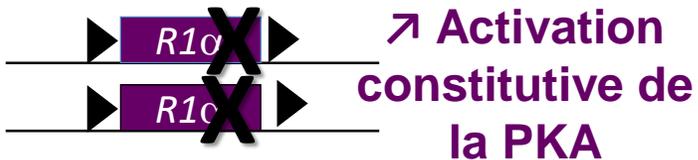
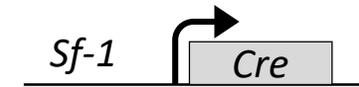
*Expression dans les cellules stéroïdogéniques/somatiques à partir de E10.5 (surrénales, gonades,...)*



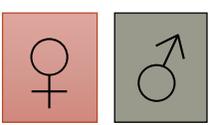
# Modèle murin du Complexe de Carney



Drelon C, Nat Commun 2016

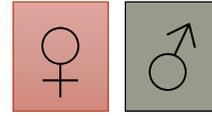


- **Hyperplasie surrénalienne**
  - ➤ **corticostérone, ACTH indépendant => Syndrome de cushing**
  - **zonation du cortex surrénalien**
  - **Lésions & tumeurs gonadiques, Stérilité** Djari C, JCI 2021
  - **Maintien / Reprogrammation de l'identité cellulaire**
  - **Hyper-testostéronémie**
  - **Pigmentation anormale de la peau !**
- **Pouvoir pathogène de la perte de R1α => atteintes surrénaliennes et gonadiques des patients CNC**

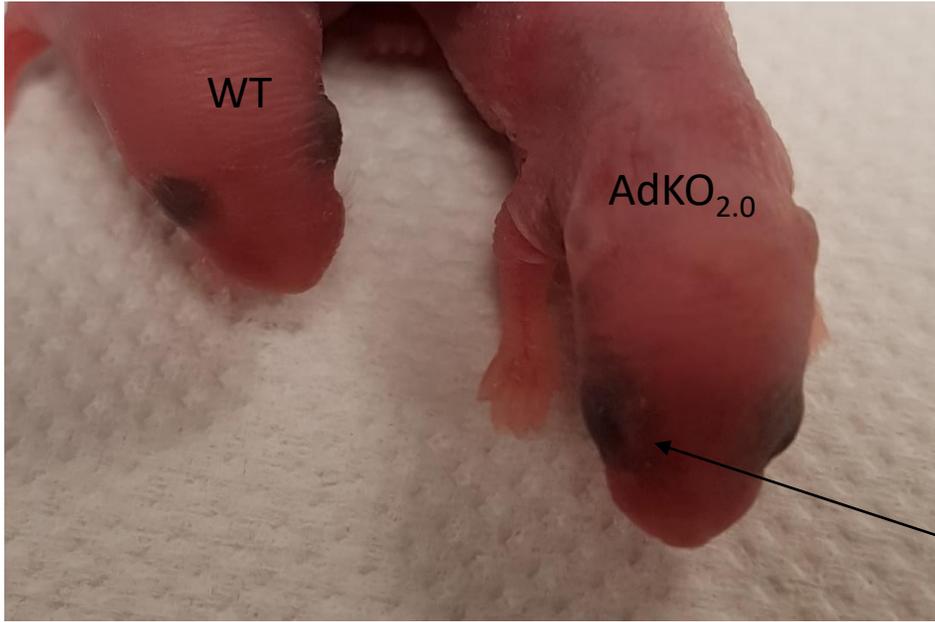


1 jour

# AdKO<sub>2.0</sub> : Phénotype cutané



5 jours



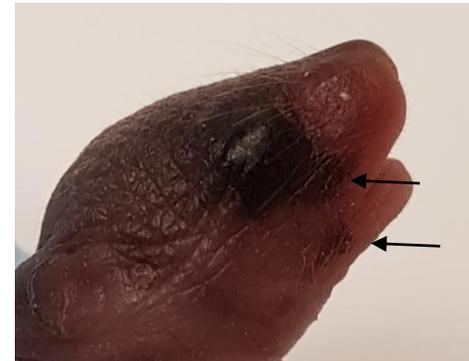
**Elargissement de la coloration noire autour de l'œil** ♀♂



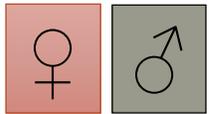
♀ WT



♀ AdKO<sub>2.0</sub>



♂ AdKO<sub>2.0</sub>



5 jours

# AdKO<sub>2.0</sub> : Phénotype cutané



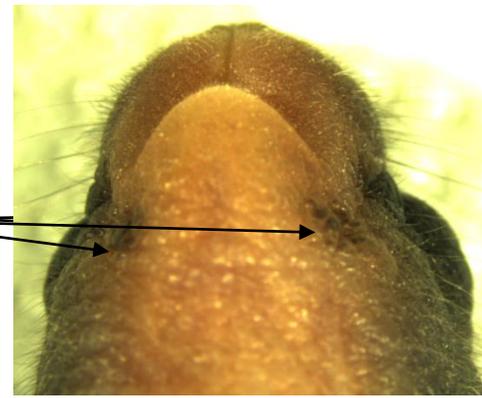
Spots symétriques sous le menton

Jonctions articulaires, ♀♂

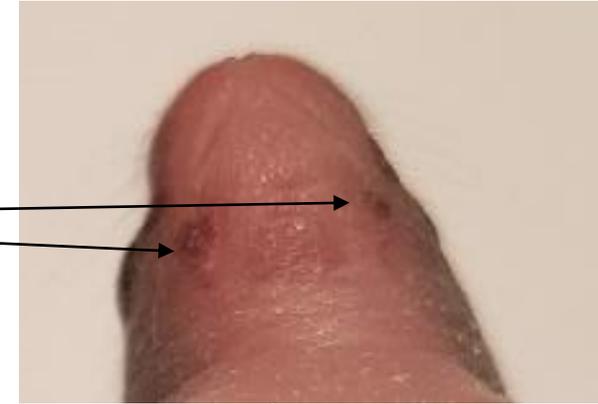
Aréoles, ♀

Zone Périnéale, ♀♂

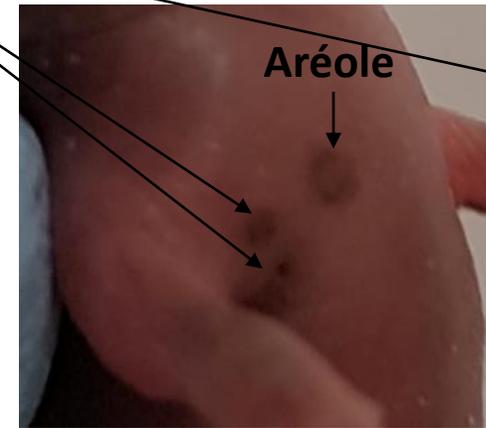
Queue, ♀♂



♀ AdKO<sub>2.0</sub>

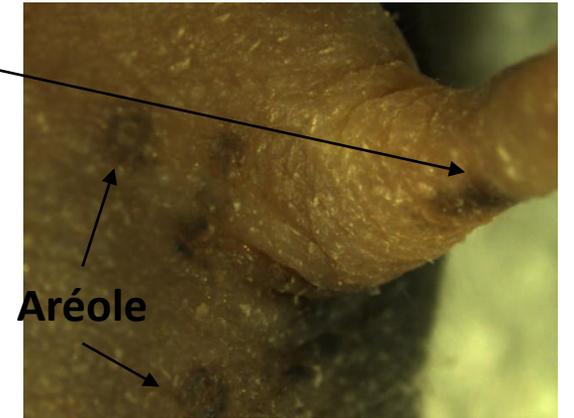


♂ AdKO<sub>2.0</sub>

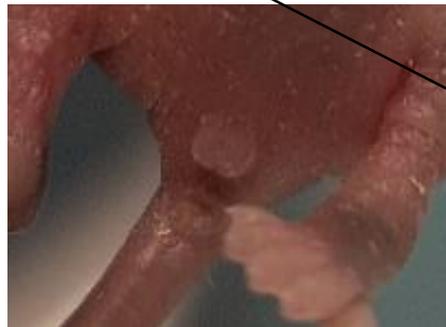


Aréole

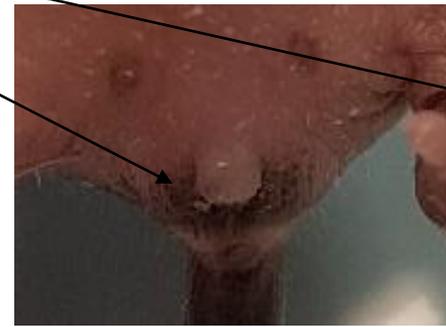
♀ AdKO<sub>2.0</sub>



Aréole



♀ WT



♀ AdKO<sub>2.0</sub>



♂ AdKO<sub>2.0</sub>

Dès la naissance,  
100% ont des lentigines

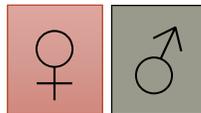


2,5 mois

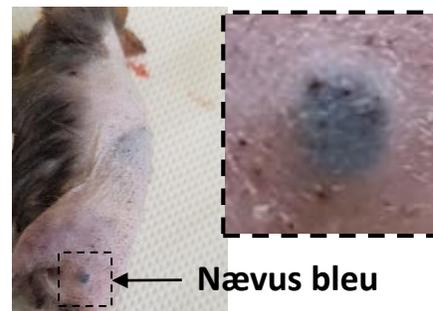


Aréoles

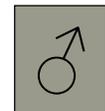
# AdKO<sub>2.0</sub> : Phénotype cutané



A partir de 2 mois,  
100% ont des nævi



A partir de 6 mois,  
44% ont des myxomes

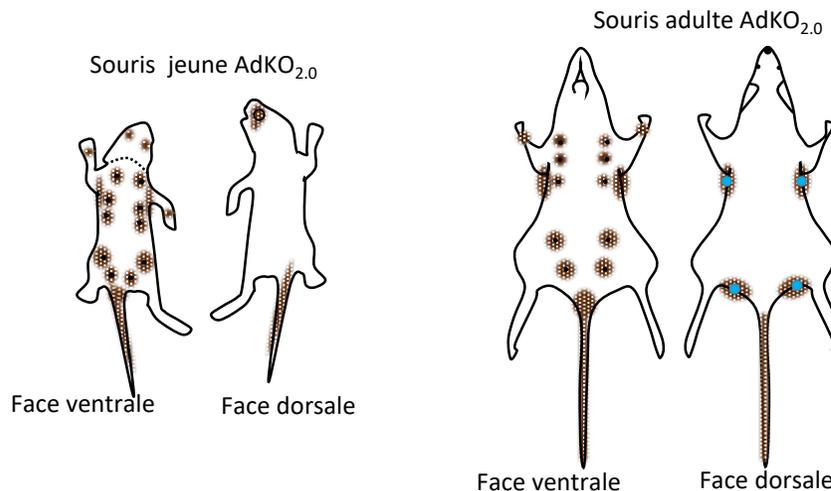


4 mois



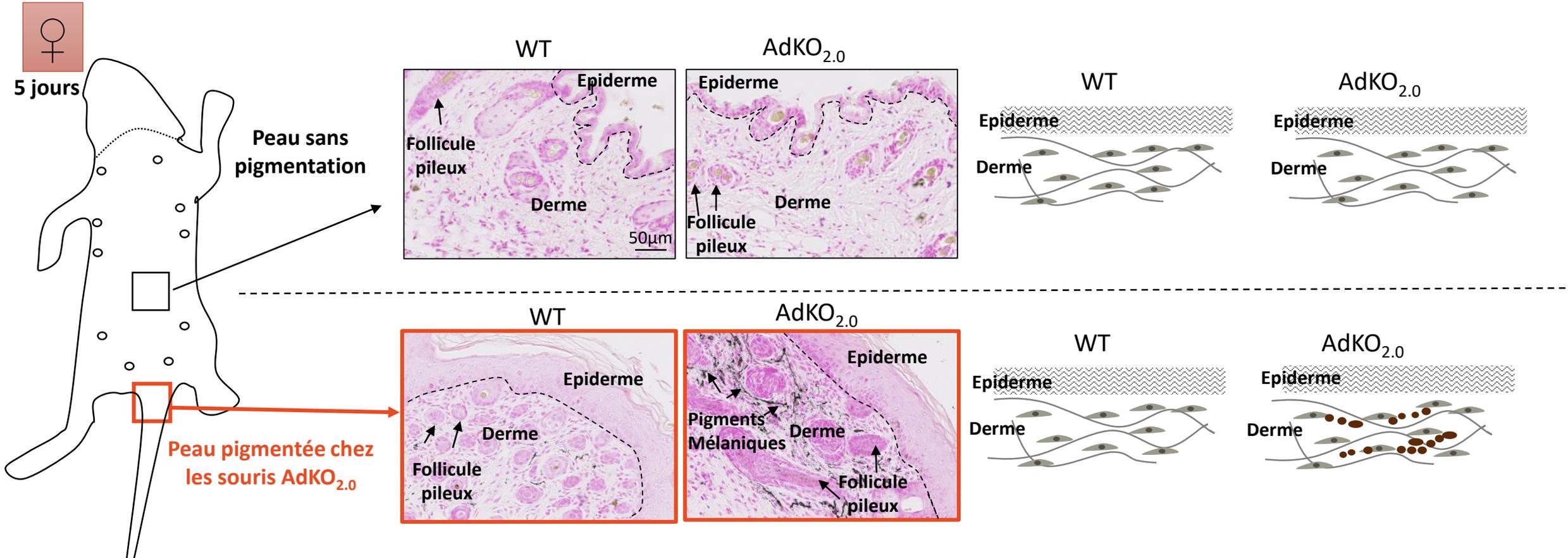
## Cartographie des altérations cutanées chez les souris AdKO<sub>2.0</sub>

- lentigines
- nævi/myxomes



- ✓ Lentigines
- ✓ Nævi
- ↓ Environnement favorable
- ✓ myxomes

# AdKO<sub>2.0</sub> : phénotype cutané, Coloration Fontana Masson => mélanine



Quelle est la cause de ce phénotype cutané?

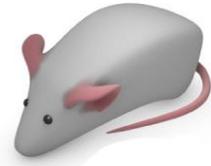
✓ Pas associé à  $\nearrow$  de l'activité endocrine

✓ Associé à l'activité du transgène Sf1-Cre?

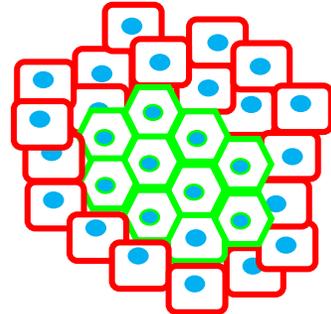
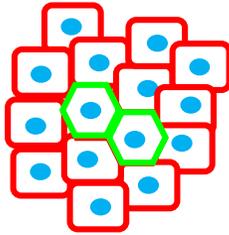
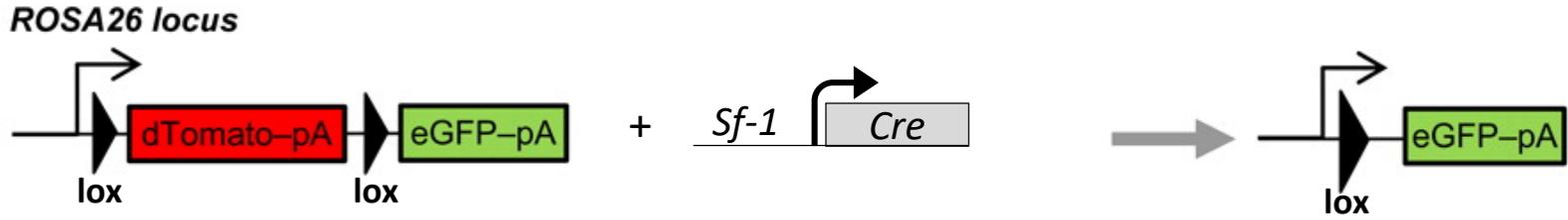
➤ Pas d'altérations structurales dans la peau avec ou sans pigmentation chez les souris AdKO<sub>2.0</sub>

➤ Enrichissement en pigments mélaniques dans le DERME

# Activité du transgène Sf1-Cre



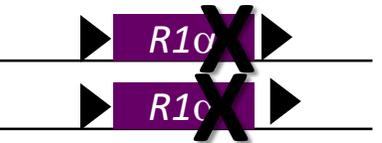
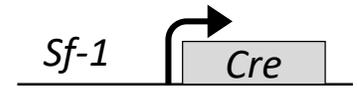
Transgène rapporteur fluorescent : mTmG



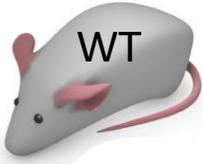
Cellules eGFP+:

✓ exprime Sf1-cre  
ou

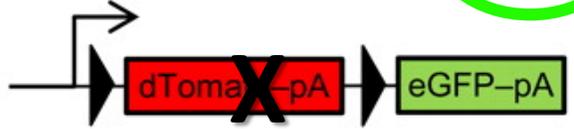
✓ descendants de cellules qui ont exprimées Sf1-cre  
=> Accès à l'ensemble du lignage Sf1



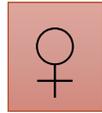
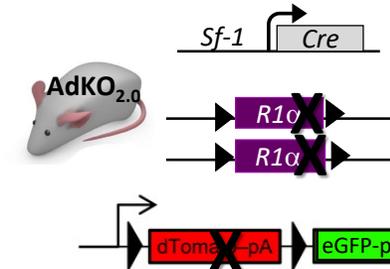
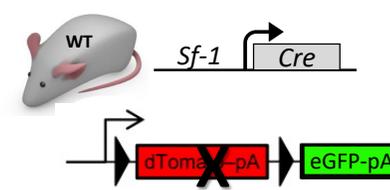
KO-R1α



WT-R1α

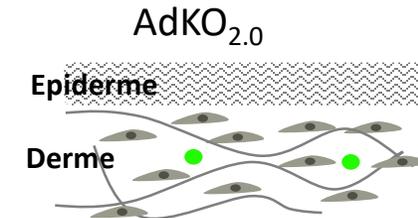
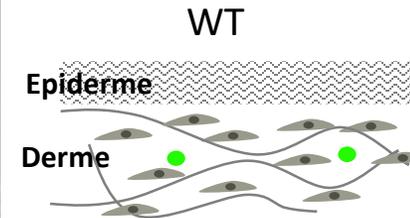
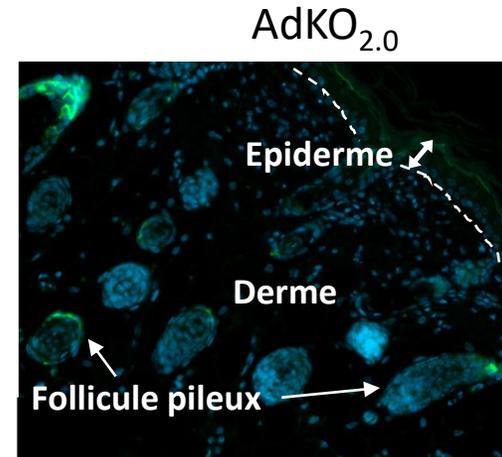
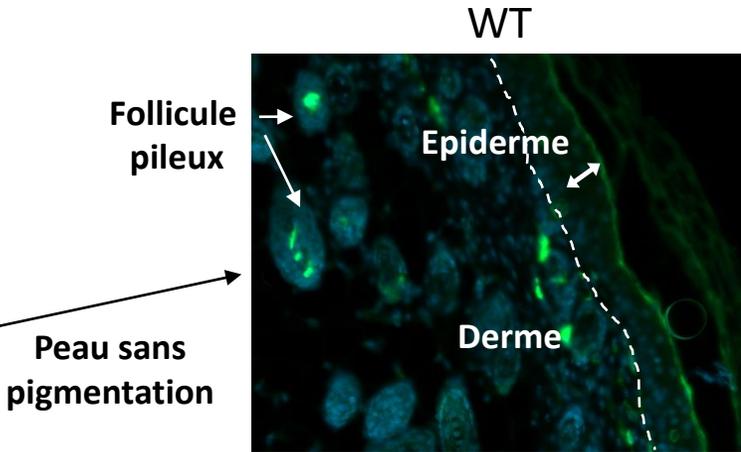
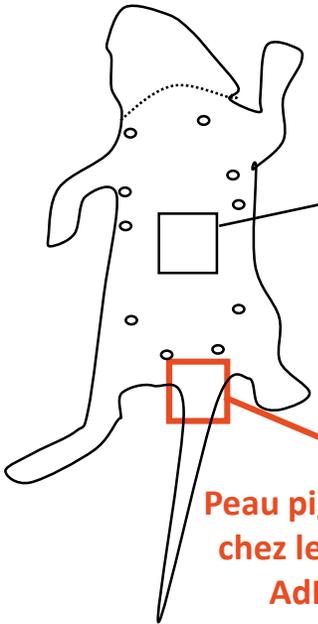


# Visualisation du lignage Sf1 cutané (rapporteur mTmG)

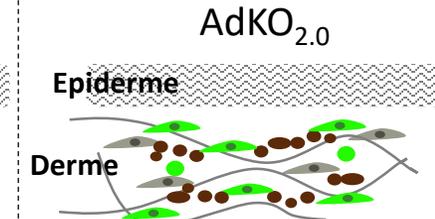
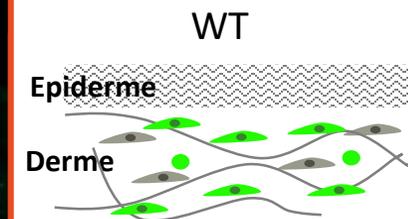
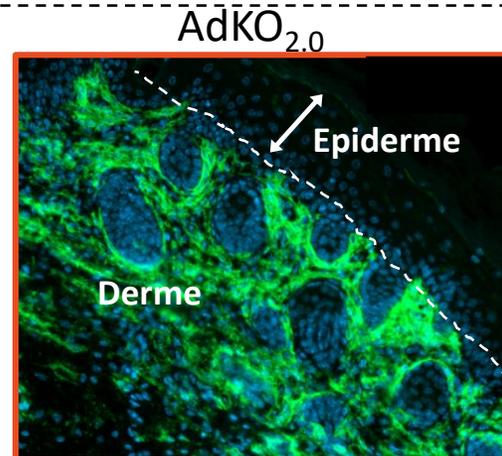
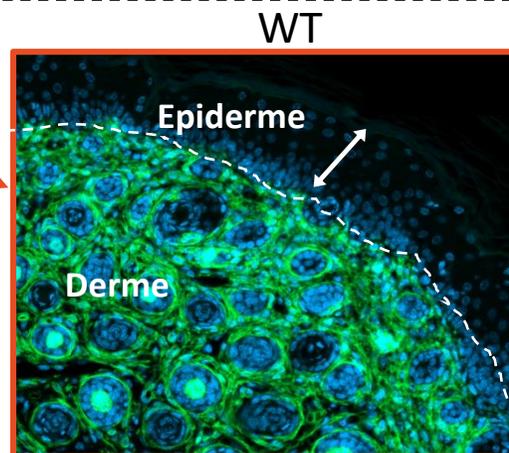


eGFP : marquage vert

5 jours



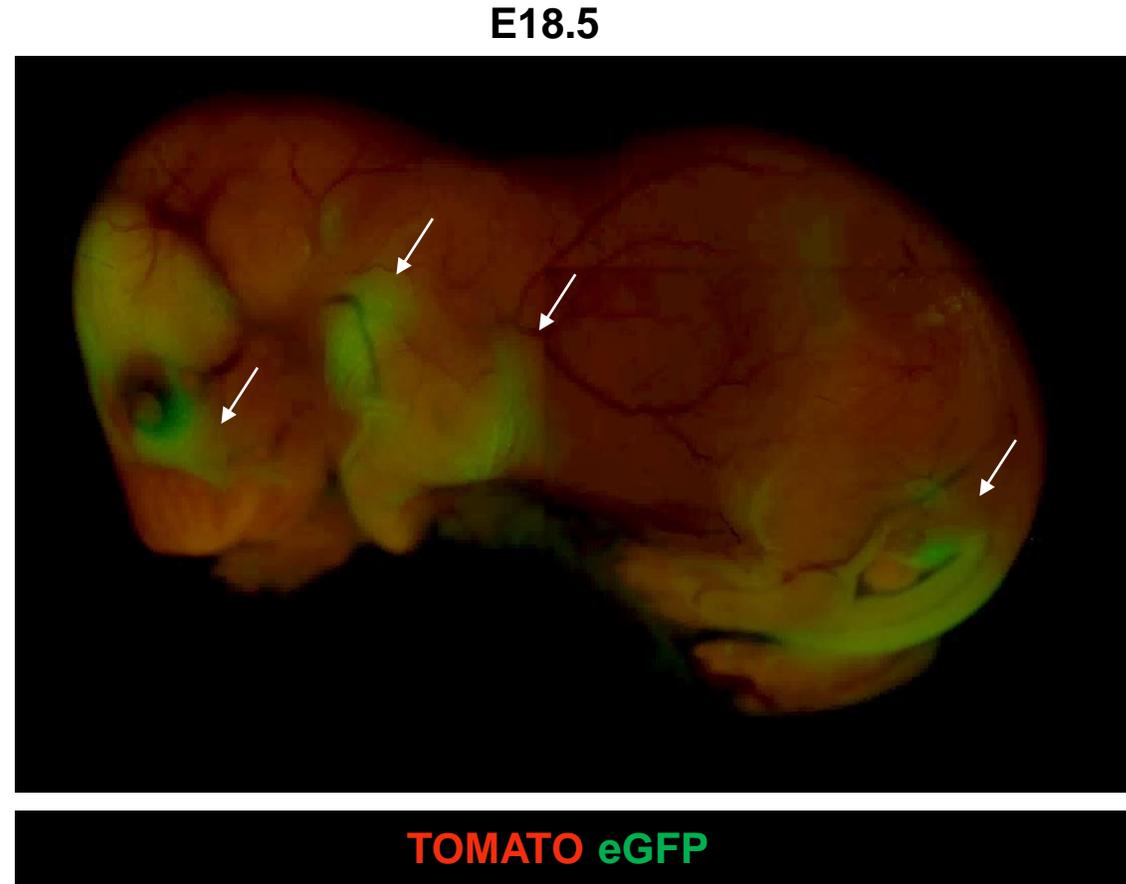
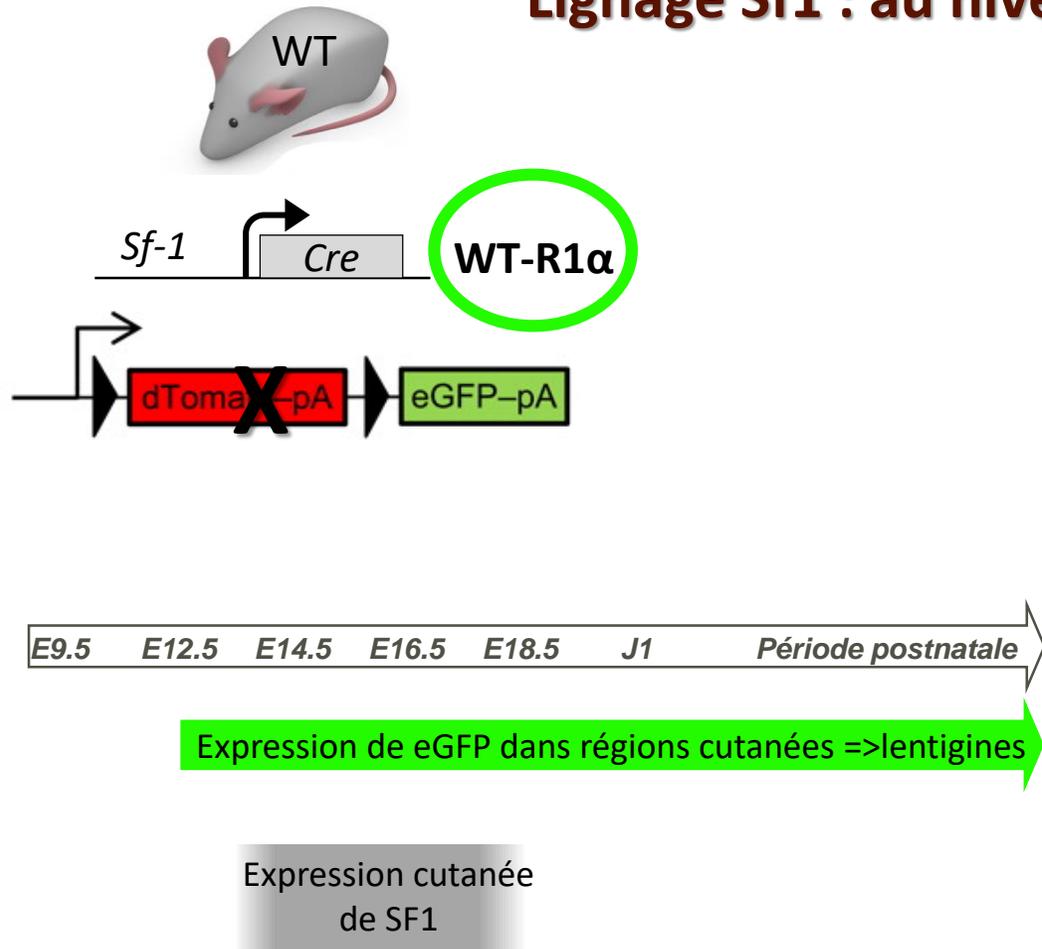
Expression de GFP dans quelques cellules :  
Follicule pileux



Expression de GFP dans de nombreuses cellules :  
Derme  
Follicule pileux

➤ région cutanée eGFP+ ↔ pigmentation observée dans les souris AdKO<sub>2.0</sub>

# Lignage Sf1 : au niveau de la peau & pendant le développement



- **Corrélation entre les régions cutanées eGFP+ et les localisations des lentigines observés dans les souris AdKO<sub>2.0</sub>**
  - **Les cellules à l'origine des lentigines proviennent d'un lignage dermique qui a exprimé SF1**
- ✓ Type cellulaire dermique correspondant aux cellules du lignage Sf1?



# Identification du type cellulaire correspondant aux cellules du lignage Sf1

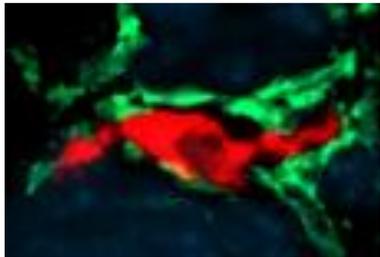
Lentignes



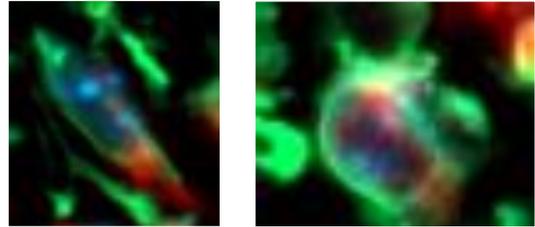
Nævi



eGFP (lignage-Sf1)  
MLAN-A (Mélanoocyte) H



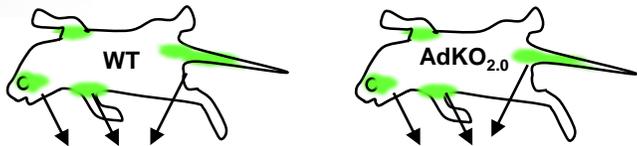
eGFP (lignage-Sf1) VIMENTINE  
(Fibroblaste) H



➤ Les cellules issues du lignage Sf1 sont des fibroblastes dermiques

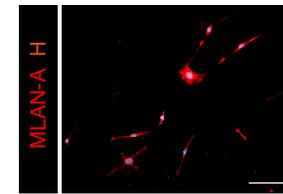
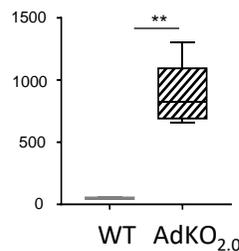
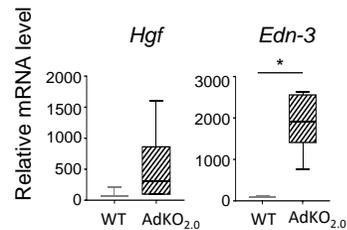


## Culture primaire de cellules dermiques du lignage Sf1



↗ Facteurs mélanogènes

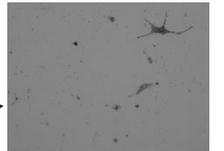
↗ HGF sécrété dans le milieu des fibroblastes



Mélanocytes WT-Jour 0

+ Milieu conditionné issu de fibroblastes WT

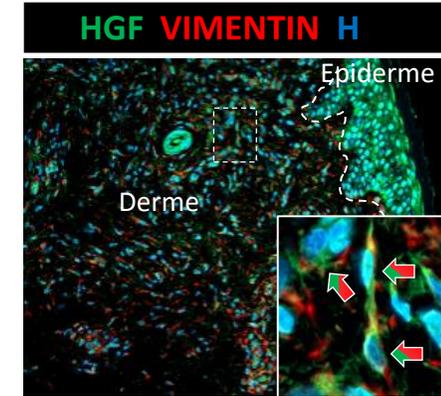
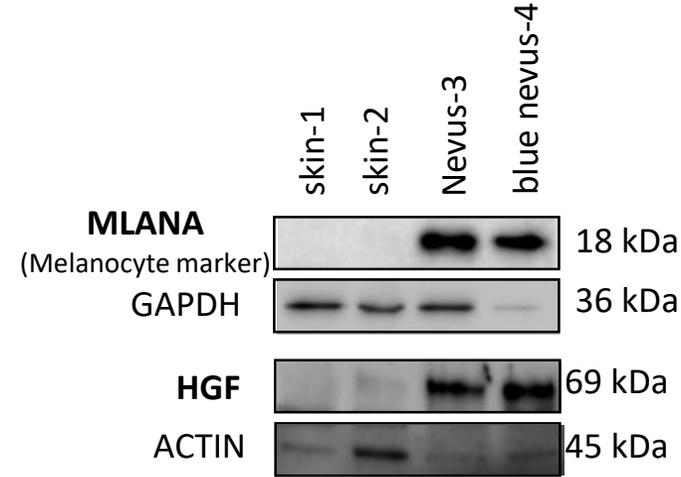
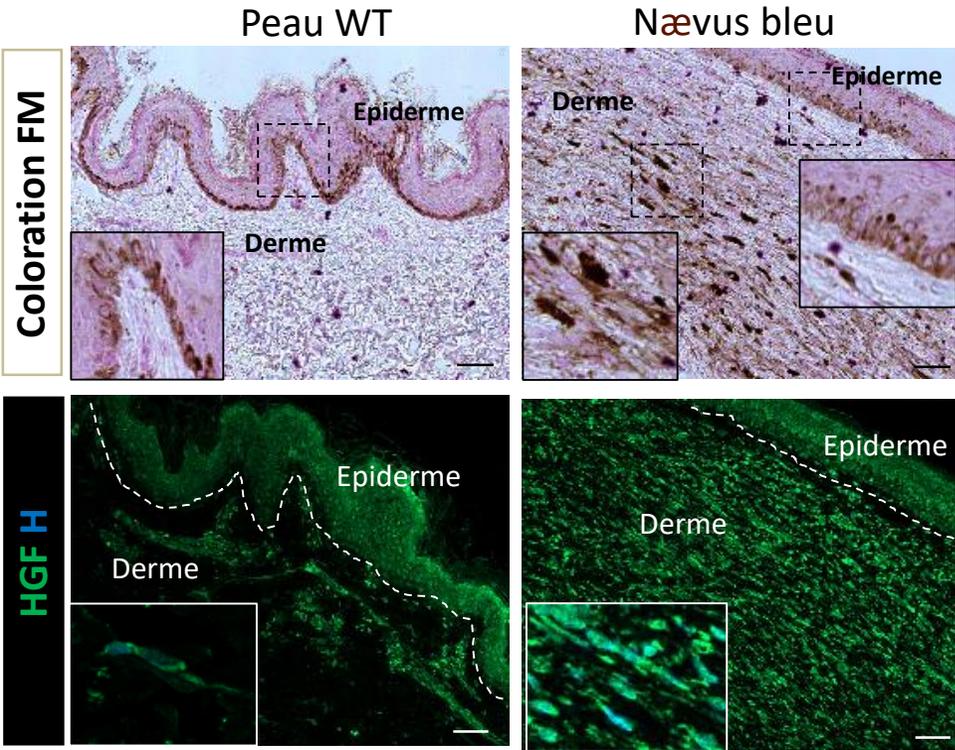
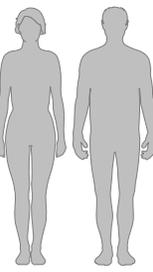
+ Milieu conditionné issu de fibroblastes AdKO<sub>2.0</sub>



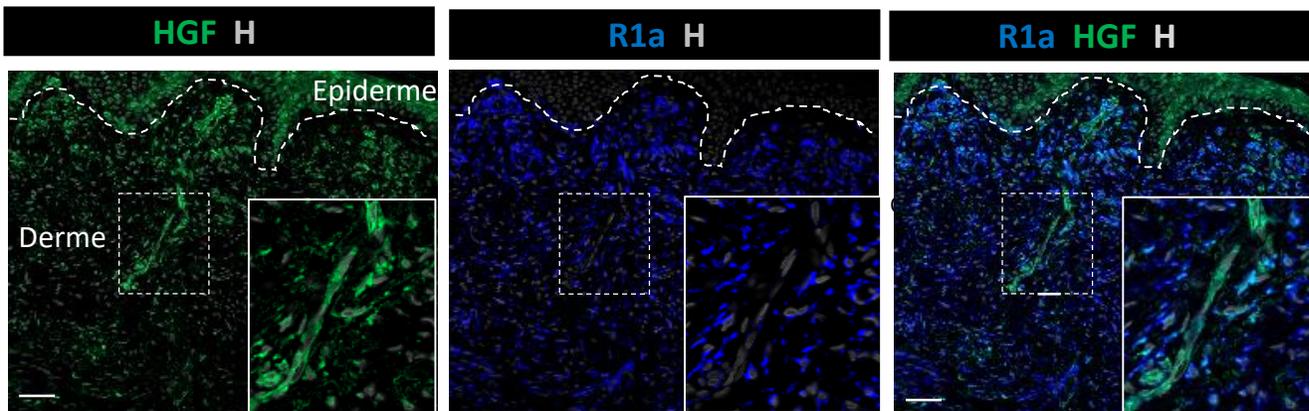
Mélanocytes WT-jour 14

➤ ↗ de la signalisation PKA dans les cellules dermiques du lignage Sf1 => activité paracrine mélanogène

# Nævi bleus issus de patients CNC

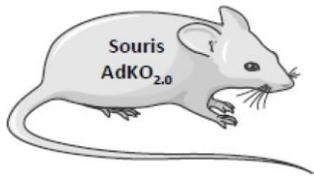


➤ **Corrélation entre pigmentation et facteur mélanogène HGF**

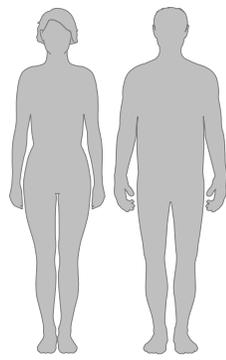


**R1α- =>HGF +++**

➤ **Des mécanismes similaires conduisent à la pigmentation des nævi chez les patients CNC & souris AdKO<sub>2.0</sub>**

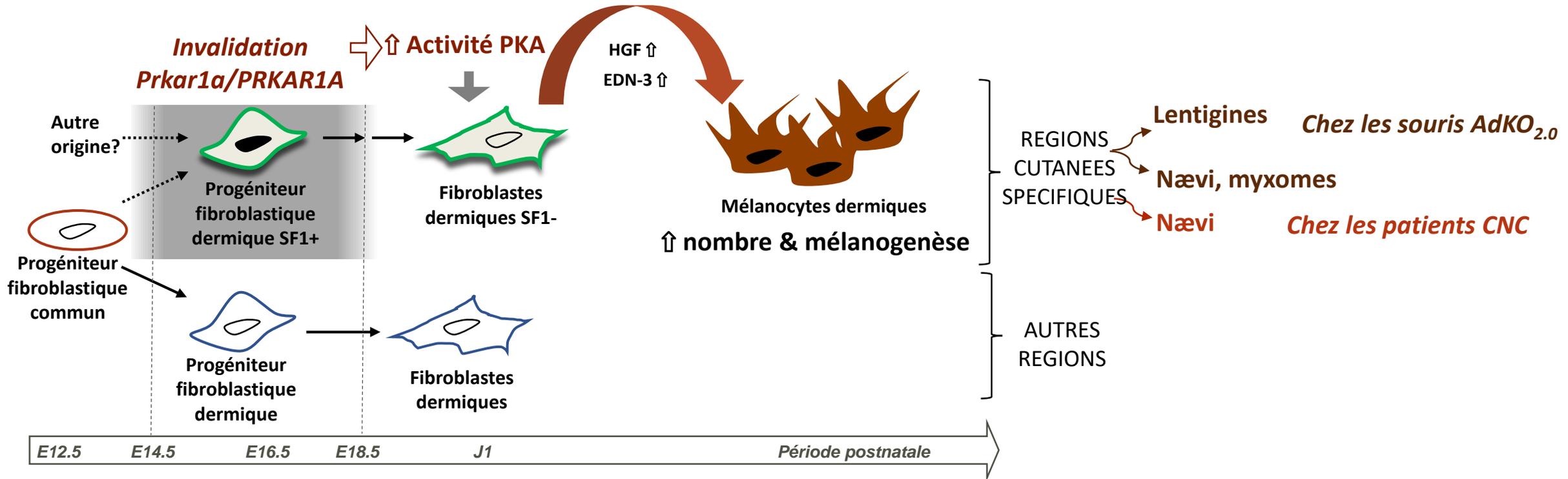


# Conclusions: Apport du modèle animal sur l' étiologie du CNC



**Chez les souris AdKO<sub>2.0</sub> :**  
**Lentigines / Nævi / Myxomes**

**Chez les patients CNC :**  
**Lentigines / Nævi / Myxomes**





# Masculinisation des organes génitaux externes chez les souris AdKO<sub>2.0</sub>

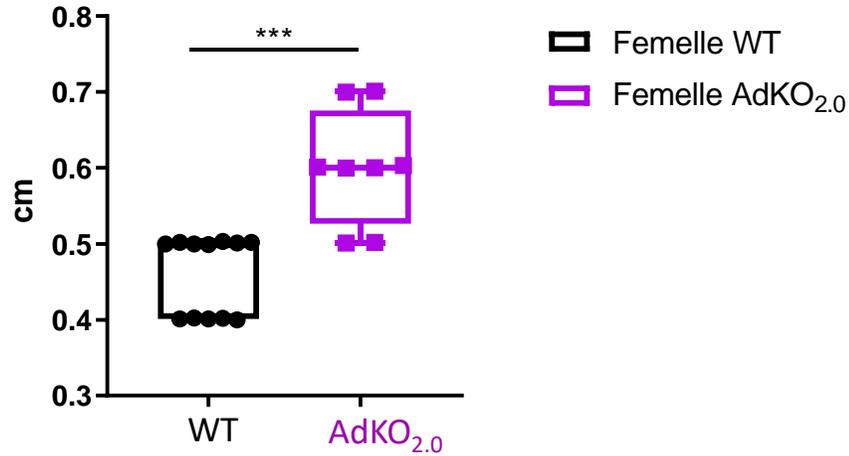
WT



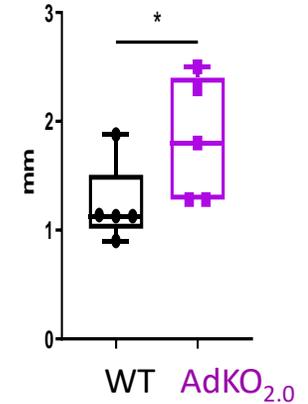
AdKO<sub>2.0</sub>



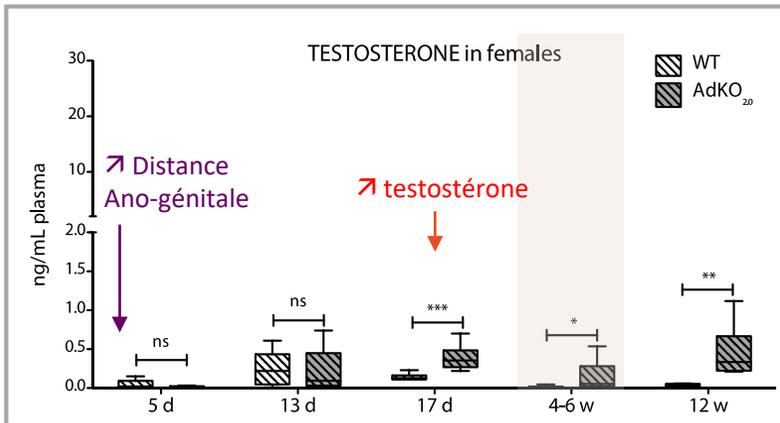
### Distance ano-génitale Femelles âgées de 10-12 jours



### Distance ano-génitale Femelles âgées de 3 jours



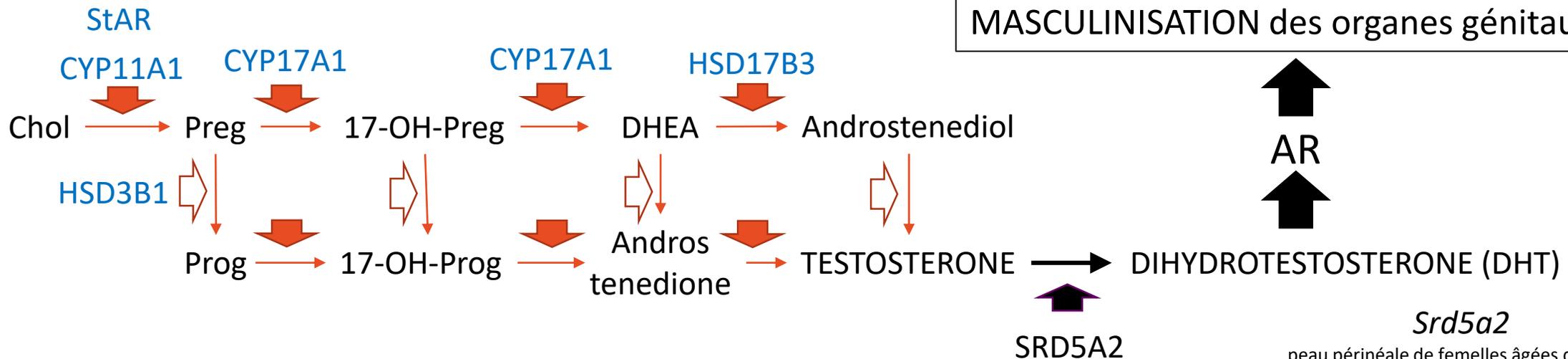
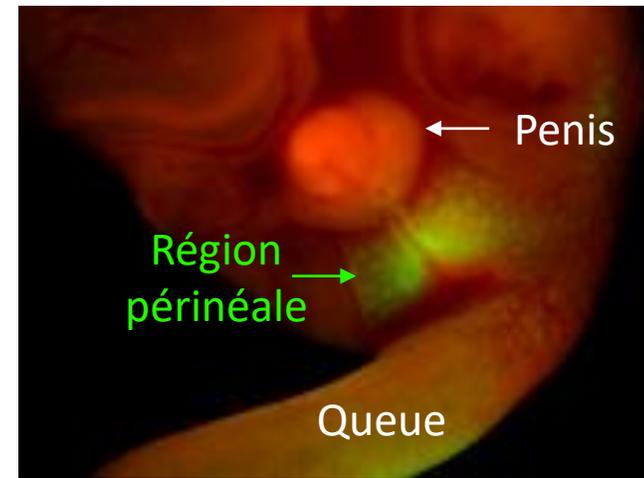
➤ L'augmentation de la distance ano-génitale : marqueur d'une masculinisation des organes génitaux externes, causée par une hyperandrogénie



✓ L'hyper-testostéronémie chez les femelles AdKO<sub>2.0</sub> n'est détecté qu' à partir de 17 jours de vie => n'explique pas ce phénotype de masculinisation

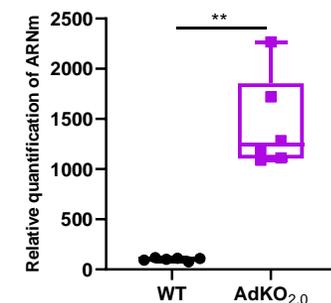
# Hypothèse de Travail

- Une production locale d'androgènes à partir de la peau du périnée chez les AdKO<sub>2.0</sub> responsable de la masculinisation des organes génitaux externes ?



- ✓ Enzymes requise pour la production d'androgènes ?
- ✓ Production locale d'androgènes ?
- ✓ Effet potentiel des androgènes sur le développement du clitoris ?
- ✓ Altérations au niveau des organes génitaux externes chez les patientes CNC ?

*Srd5a2*  
peau périnéale de femelles âgées de 5 jours



# Equipe "Physiopathologie moléculaire de la surrénale et des tissus endocrines"

A. Martinez & P. Val



J-Christophe

Igor

Pierre

Marie

Iuliia  
M2

Diana  
Postdoc

Florian  
Doc

Isabelle

Antoine  
M1

Antoine



Line, Doc



Elliot, Doc



Allison, Postdoc



Rachel, Mdc

## Collaborateurs

**Pr. Constantine Stratakis,  
Dr. Fabio.R. Faucz, Dr. Crystal  
Kamilaris**

NICHD, NIH, Bethesda, USA

**Dr. Jean-Marie Botto,**  
Global Skin Research Center,  
Ashland, Sophia Antipolis,  
France



**Inserm**



*Merci pour votre attention*