Avis de Soutenance

Monsieur Timothée BIGOT

Biologie-Santé - Spécialité Bioinformatique et Génomique

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Mécanismes moléculaires des pathologies plaquettaires constitutionnelles liées aux gènes ETV6 et FLI1 : apport du scRNAseq

dirigés par Madame Marie-christine ALESSI et Madame Marjorie POGGI

Thèse soutenue le ***mardi 28 novembre 2023*** à 14h00
Lieu : Salle de thèse n°2 1er étage - Aile Bleue Aix-Marseille Université - Campus Santé Timone - Faculté de Médecine 27, Bd Jean Moulin, 13005 Marseille
Salle : de thèse n°2

Composition du jury proposé

Mme Hana RASLOVA	UMR 1287 - Institut Gustave Roussy	Rapporteure
Mme Emmanuelle BECKER	Irisa / Inria Rennes-Bretagne Atlantique	Rapporteure
Mme Marie-Christine ALESSI	Centre de recherche en cardiovasculaire et nutrition	Directrice de thèse
Mme Marjorie POGGI	Centre de recherche en cardiovasculaire et nutrition	Co-directrice de thèse
Mme Alexandra SENIS-MAZHARIAN	Université de Strasbourg	Examinatrice
M. Pierre-Emmanuel MORANGE	Aix-Marseille UNiversité - CRCM	Examinateur
Mme Delphine POTIER	Aix-Marseille Université - CRCM	Invitée

Mots-clés : ETV6,scRNAseq,Megacaryopoïèse,FLI1,Thrombopénie constitutionnelle,

Résumé :

Les thrombopénies constitutionnelles sont un groupe hétérogène de maladies peu étudiées, mais reconnues pour causer des saignements ou être une manifestation annonciatrice de pathologies hématologiques ou de manifestations extra hématologiques à l'origine de pathologies syndromiques . Cette thèse se concentre sur les thrombopénies constitutionnelles liées à FLI1 et ETV6, étudiées grâce à des patients français recrutés par le Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires (CRPP). Les patients présentent des thrombopénies causées par 6 variants génétiques, dont 3 inédits. Les phénotypes cliniques et biologiques ont été documentés. L'utilisation du scRNAseq a permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires en jeu dans ces pathologies, ainsi que de décrire plus précisément la mégacaryopoïèse in vitro. Deux nouveaux variants FLI1, p.R340C et p.G307R, montrent un déficit en granules plaquettaires similaire à d'autres variants. Une population anormale de mégacaryocytes avec une dérégulation de la voie de l'agrégation plaquettaire a été

observée, caractérisée notamment par un déficit en taline 1, pour laquelle nous vons montré une régulation par FLI1 en coopération avec GATA1. Un variant inédit d'ETV6, p.F17LTer4, produisant une protéine tronquée, a été décrit. Cette protéine tronquée ne pénètre pas dans le noyau et n'exerce pas son activité répressive. Les variants ETV6 p.P214L et p.F17LTer4 montrent des défauts similaires, avec des altérations de la différenciation mégacaryocytaire, les voies de la traduction et de la réparation de l'ADN ainsi qu'une dérégulation de GATA2. Ces défauts pourraient participer la thrombopénie et la prédisposition aux leucémies chez les patients porteurs de variants ETV6. L'utilisation de la scRNAseq et des outils bioinformatiques dans le contexte des pathologies plaquettaires constitutionnelles pourrait conduire au développement de nouvelles voies thérapeutiques. Enfin, ce projet éclaire les causes génétiques, les mécanismes moléculaires, et le phénotype des thrombopénies constitutionnelles, soulignant l'importance de la multidisciplinarité en recherche biomédicale.

LE DOYEN

George LEONETTI

Résumé

Les thrombopénies constitutionnelles sont un groupe hétérogène de maladies peu étudiées, mais reconnues pour causer des saignements ou être une manifestation annonciatrice de pathologies hématologiques ou de manifestations extra hématologiques à l'origine de pathologies syndromiques.

Cette thèse se concentre sur les thrombopénies constitutionnelles liées à FLI1 et ETV6, étudiées grâce à des patients français recrutés par le Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires (CRPP). Les patients présentent des thrombopénies causées par 6 variants génétiques, dont 3 inédits. Les phénotypes cliniques et biologiques ont été documentés. L'utilisation du scRNAseq a permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires en jeu dans ces pathologies, ainsi que de décrire plus précisément la mégacaryopoïèse *in vitro*.

Deux nouveaux variants FLI1, p.R340C et p.G307R, montrent un déficit en granules plaquettaires similaire à d'autres variants. Une population anormale de mégacaryocytes avec une dérégulation de la voie de l'agrégation plaquettaire a été observée, caractérisée notamment par un déficit en taline 1, pour laquelle nous vons montré une régulation par FLI1 en coopération avec GATA1.

Un variant inédit d'ETV6, p.F17LTer4, produisant une protéine tronquée, a été décrit. Cette protéine tronquée ne pénètre pas dans le noyau et n'exerce pas son activité répressive. Les variants ETV6 p.P214L et p.F17LTer4 montrent des défauts similaires, avec des altérations de la différenciation mégacaryocytaire, les voies de la traduction et de la réparation de l'ADN ainsi qu'une dérégulation de GATA2. Ces défauts pourraient participer la thrombopénie et la prédisposition aux leucémies chez les patients porteurs de variants ETV6.

L'utilisation de la scRNAseq et des outils bioinformatiques dans le contexte des pathologies plaquettaires constitutionnelles pourrait conduire au développement de nouvelles voies thérapeutiques. Enfin, ce projet éclaire les causes génétiques, les mécanismes moléculaires, et le phénotype des thrombopénies constitutionnelles, soulignant l'importance de la multidisciplinarité en recherche biomédicale.

Mots clés : ETV6, FLI1, scRNAseq, Thrombopénie, Mégacaryopoïèse, Génomique & Bioinformatique

Abstract

Constitutional thrombocytopenia constitute a heterogeneous group of diseases that have been relatively underexplored but are recognized for their propensity to cause bleeding. Some are associated with non-hematological complications or predisposition to leukemia. This thesis focuses on constitutional thrombocytopenia linked to FLI1 and ETV6, studied using patients recruited in France through the Center of Reference for Platelet Disorders (CRPP). These patients exhibit thrombocytopenia caused by 6 genetic variants, including 3 previously unreported ones. Clinical and biological phenotypes have been documented.

The use of single-cell RNA sequencing (scRNAseq) has provided a better understanding of the molecular mechanisms underlying these disorders and has enabled a more precise description of in vitro megakaryopoiesis.

Two novel FLI1 variants, p.R340C and p.G307R, exhibit a deficit in platelet dense granules similar to other variants. Furthermore, an abnormal population of megakaryocytes displaying dysregulation in the platelet aggregation pathway has been observed. Among the proteins we demonstrated that talin 1 is regulated by FLI1. A previously unreported ETV6 variant, p.F17LTer4, produces a truncated protein that fails to enter the nucleus and exert its repressive activity. Both ETV6 variants, p.P214L and p.F17LTer4, exhibit similar defects, affecting megakaryocytic differentiation, the translation and the response to DNA damage pathways as well as GATA2 dysregulation. These defects could explain the thrombocytopenia and likely underlie the predisposition to leukemia in patients with ETV6 variants.

The use of scRNAseq and bioinformatics tools in the context of constitutional platelet disorders holds the potential for the development of new treatments. Finally, this project sheds light on the genetic causes, molecular mechanisms, and phenotypes of constitutional thrombocytopenia, underscoring the importance of multidisciplinarity in biomedical research.

Keywords: ETV6, FLI1, scRNAseq, Thrombocytopenia, Megakaryopoiesis, Genomics & Bioinformatics