

# La peau reconstruite : modèle d'étude du keratinocyte, du fibroblaste et de leurs interactions. Effets des ultraviolets, dommages et réparation

par Françoise Bernerd

L'Oréal Recherche, Centre C. Zviak, 90, rue du général Roguet, 92583 Clichy, France.

Correspondance : Tél. : 33-1-47-56-73-27. Fax : 33-1-47-56-40-43. E-mail : fbernerd@rd.loreal.com

Reçu le 19 octobre 2005

## RÉSUMÉ

Le rôle de protection de la peau est apporté par les deux tissus majeurs, le derme et l'épiderme. L'une des principales agressions est l'exposition aux rayonnements ultraviolets solaires, dont les conséquences à long terme sont le vieillissement photo-induit et l'apparition de cancers. La caractérisation de la réponse de la peau face aux UV est un point essentiel pour prévenir ou corriger ces effets. L'approche *in vitro* dite organotypique consiste à reconstruire de la peau à partir de cellules humaines en culture et d'éléments matriciels. Ainsi le modèle de peau reconstruite peut comporter un épiderme différencié, mais aussi un derme équivalent vivant contenant des fibroblastes. Les effets induits par les UVB ont pu être reproduits dans ce modèle. Ils sont localisés dans l'épiderme et sont identiques à ceux observés dans la peau humaine lors d'un coup de soleil modéré, notamment l'apparition dans les kératinocytes des lésions de l'ADN spécifiques des UVB. Des altérations caractéristiques d'exposition aux rayonnements UVA ont aussi été identifiées dans les fibroblastes et ont pu être reliées aux dommages dermiques associés au phénomène de photovieillessement. L'interaction entre les deux types cellulaires a été illustrée dans la production de la MMP-1. Les dommages occasionnés par les UV sont

en général réparés par des systèmes spécialisés. Un modèle déficient dans la réparation des lésions induites par les UVB a pu être développé grâce à l'utilisation de cellules de patients atteints de *Xeroderma Pigmentosum*, une maladie génétique de la réparation de l'ADN caractérisée par une hypersensibilité aux UV et une très forte prédisposition aux cancers cutanés sur les zones exposées. Dans ces études, des traits phénotypiques particuliers ont pu être révélés au niveau du fibroblaste XP-C suggérant des interactions stroma-épithélium impliquées dans le développement des signes cliniques. Enfin, dans un contexte de correction de certaines altérations de la peau photo-endommagée, des effets bénéfiques de la vitamine C ont été identifiés, particulièrement au niveau de la jonction dermo-épidermique (JDE). Ces effets ont ensuite permis d'approfondir la participation respective des deux types cellulaires majeurs dans la morphogenèse de la JDE. L'ensemble de ces travaux apporte une vision globale et tissulaire de la réponse aux rayonnements UV dans un système *in vitro* et illustre l'intérêt plus large de ces outils biologiques en biologie cellulaire. L'amélioration des modèles, notamment par l'incorporation d'autres types cellulaires, devrait permettre d'affiner encore nos connaissances.

## SUMMARY Human skin reconstructed *in vitro* as a model to study the keratinocyte, the fibroblast and their interactions: photodamage and repair processes

The protective role of the skin is provided by the two major compartments of the skin, dermis and epidermis. Both are affected in the long term by consequences of sun exposure such as skin photoaging and cancer development. Characterization of UV-induced skin response at cellular and molecular levels is needed for prevention or correction of these long term effects. The human skin reconstructed *in vitro*, comprising both a living dermal equivalent and a fully differentiated epidermis represents a predictive tool to characterize wavelength and cell type specific biological

damage together with tissular distribution. While UVB directly affects epidermis, inducing DNA lesions and apoptotic sunburn keratinocytes, UVA radiation can directly target the dermal compartment through ROS generation, dermal fibroblasts alterations and extracellular matrix (ECM) modifications. Interactions between the two compartments have also been found, especially for MMP1 induction. In the normal population, photodamage can be repaired through specialized systems. Using skin cells from *Xeroderma pigmentosum* (XP, a photosensitive and cancer-prone

disease), a DNA-repair deficient skin has been developed *in vitro*. Specific features due to intrinsic XP cell phenotype have been discovered, some of them being indicative of early steps of neoplasia and suggesting a particular role for stroma-epithelium interactions. Finally, human reconstructed skin can be used for approaches designed to regenerate photodamaged skin. The dermal-epidermal junction (DEJ), which is crucial for skin cohesion, is drastically altered in photo-aged skin. The three-dimensional skin model allowed to visualize the improving effects of vitamin C on the DEJ. Modified skin models, lacking one cell type, allowed us to determine the cellular origin of

the different markers, their spatial localization, and the respective roles and interactions of keratinocytes and fibroblasts during DEJ formation. All together these studies give a global and tissular view concerning the effects of UV light on skin cells and emphasize the interest of such models for general aspects of cellular biology. By allowing the control of cells used to reconstruct the model and their origin, these studies make it possible to assess the respective role of the two major cellular actors of the skin as well as their interactions. Ongoing research about incorporating other cell types may certainly give rise to even more relevant models.

## INTRODUCTION

La peau est un organe complexe composé de deux tissus majeurs, l'épiderme en surface et le derme en profondeur. Les kératinocytes qui constituent 90 % des cellules épidermiques subissent un processus de différenciation très finement régulé, permettant le renouvellement permanent des cellules éliminées par desquamation. Le derme est le tissu nourricier de la peau mais représente aussi le tissu de soutien par sa structure matricielle. Il est composé en grande partie d'une matrice extracellulaire, dont les protéines majeures sont les collagènes de type I et III, l'élastine, les glycosaminoglycanes. Les fibroblastes dermiques sont responsables de la synthèse de ces protéines mais aussi de leur dégradation par le biais des métalloprotéinases de la matrice (MMPs).

La peau, organe le plus externe de notre corps, est la première cible des agressions environnementales, en particulier les rayonnements ultraviolets de la lumière solaire. Les conséquences cliniques se traduisent à court terme par le coup de soleil (Soter, 1995) et, à long terme, le photovieillissement qui se caractérise par des altérations majeures au niveau du derme (élastose solaire) (Gilchrest, 1995) et le développement d'épithélioma d'origine épidermique (carcinomes baso-cellulaires et spino-cellulaires) (Elmets, 1992). L'ensemble de ces phénomènes touche les deux compartiments cutanés, l'épiderme et le derme et impliquent les deux grands domaines du spectre UV, les UVB (290-320 nm) et les UVA (320-400 nm). Les UVB, les plus énergétiques, ont pour chromophore majeur l'ADN dans lequel ils induisent des lésions directes localisées sur les séquences bipyrimidiques (Eller, 1995), dont les plus fréquentes sont les dimères de cyclobutane pyrimidine (CPD) et les 6-4 pyrimidine pyrimidone (6-4PP). Les UVA (environ 90 % des UV solaires arrivant sur terre), moins énergétiques que les UVB, ont des propriétés de pénétration plus importantes que les UVB leur permettant d'atteindre le derme, et agissent essentiellement par génération d'espèces réactives de l'oxygène (Tyrrell & Keyse, 1990).

L'identification des événements précoces impliqués dans la réponse aux UV est un élément crucial de com-

préhension mécanistique des phénomènes à long terme. Les études *in vivo* faisant appel à des volontaires sains sont souvent limitées pour d'évidentes raisons éthiques mais aussi pratiques. Par ailleurs, les cultures classiques de cellules de peau demeurent très éloignées des conditions physiologiques *in vivo* (absence de différenciation épidermique complète, environnement matriciel des fibroblastes dermiques absent, etc.).

## LA PEAU RECONSTRUITE

Pour se rapprocher davantage de la réalité, une approche *in vitro* dite organotypique a été choisie. Elle consiste à reconstruire *in vitro* la peau à partir de cellules humaines en culture et d'éléments matriciels. Le modèle de peau reconstruite utilisé est celui de E. Bell et D. Asselineau (Asselineau *et al.*, 1985; Bell *et al.*, 1983). Il comporte un derme équivalent vivant, composé de fibroblastes enchassés dans une matrice collagénique, sur lequel des kératinocytes humains normaux sont ensemencés, cultivés en condition immergée jusqu'à recouvrement du support puis en condition émergée (interface air-liquide) afin de permettre une différenciation épidermique complète avec formation de couches cornées (Regnier *et al.*, 1990) (Fig. 1).

Ce modèle permet d'appréhender à la fois la réponse du kératinocyte et du fibroblaste, vis à vis d'expositions utilisant différentes sources délivrant tout ou partie du rayonnement UV. Les interactions entre les deux types cellulaires majeurs de la peau peuvent aussi être étudiées.

## LES KÉRATINOCYTES ÉPIDERMIQUES : CIBLES DIRECTES DES UVB

Il a d'abord été possible de reproduire dans ce système *in vitro* les phénomènes biologiques majeurs associés à une exposition UVB modérée, responsable dans la peau humaine normale d'un érythème léger (ou coup de soleil modéré). Ce phénomène est associé sur le plan cellulaire

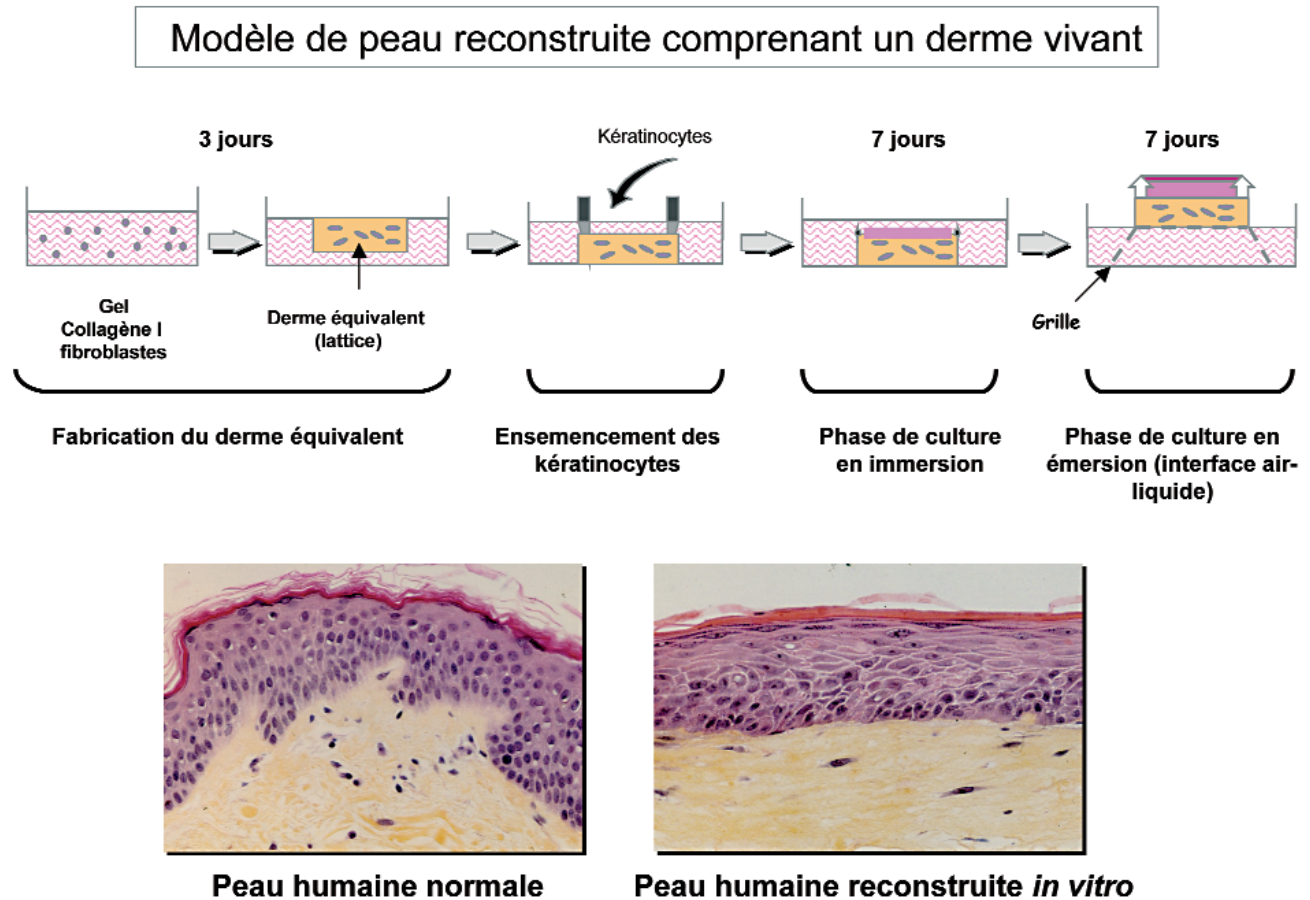


FIG. 1. – Schéma des étapes de reconstruction de la peau humaine *in vitro*.  
Histologie d'une peau humaine normale et d'une peau humaine reconstruite *in vitro*.

à la formation des lésions directes de l'ADN citées plus haut (Roza *et al.*, 1991), l'apparition dans les 24 heures qui suivent l'exposition de cellules appelées "sunburn cells" (SBC) ou cellules coup de soleil (Young, 1987; Ziegler *et al.*, 1994), caractéristiques sur le plan morphologique et dont la nature apoptotique a été démontrée, enfin, la stabilisation et l'accumulation de la protéine P53. Bien que l'érythème ne puisse pas être reproduit *in vitro*, l'ensemble des marqueurs moléculaires et cellulaires associés a été retrouvé dans la peau reconstruite exposée à la même dose d'UVB. Les effets directs observés sont essentiellement épidermiques du fait de la faible pénétration de ces longueurs d'onde. Le phénomène apoptotique observé pourrait être bénéfique pour l'épiderme, en éliminant les cellules basales prolifératives, trop endommagées ou incapables de réparer les lésions de l'ADN, afin d'éviter d'éventuelles mutations qui seraient responsables d'un engagement tumoral. Des études cinétiques utilisant le modèle de peau reconstruite *in vitro* ont montré que les dommages typiques liés aux UVB cités ci-dessus (SBC et dimères) étaient « réparés » en quelques jours, comme cela est décrit dans la peau humaine (Bernerd & Asselineau, 1997).

### LE FIBROBLASTE DERMIQUE : UNE CELLULE TRÈS SENSIBLE AUX UVA

Au contraire des UVB, et du fait de leur pénétration importante, les effets directs majeurs des UVA sont essentiellement localisés dans le compartiment dermique. Après exposition UVA à une dose modérée (25 J/cm<sup>2</sup>), un stress oxydatif global peut être visualisé dans l'ensemble de la peau, épiderme et derme. Dans cette gamme de dose, aucune cellule n'est positive pour le marquage des dimères de pyrimidine, ni pour l'accumulation de la protéine P53. Quelques heures après cette exposition, un processus apoptotique est visualisé au niveau des fibroblastes du derme superficiel uniquement, conduisant à leur disparition en 48 heures (Bernerd & Asselineau, 1998). Néanmoins, les fibroblastes situés dans la partie profonde du derme équivalent échappent à ce phénomène et recolonisent progressivement le derme au cours d'un processus qui rappelle la régénération *in vivo*. Ces fibroblastes ainsi « activés » ont une synthèse de protéines matricielles, dont la fibronectine, très élevée. La recolonisation dure environ 15 jours et se traduit aussi par une diminution de l'épaisseur du derme équivalent.

Du fait de leur aspect histologique mais aussi biochimique, ces phénomènes ont été rapprochés des processus précoces d'altérations de la matrice dermique observés au cours du photovieillissement et de la formation de l'élastose solaire (Chen *et al.*, 1986 ; Lavker, 1995). Ces résultats illustrent l'impact biologique des rayonnements UVA dans le compartiment profond de la peau et confirment une sensibilité du fibroblaste importante face à un stress oxydatif (Moysan *et al.*, 1996)

### INTERACTIONS KÉRATINOCYTES-FIBROBLASTES DANS LA PRODUCTION DE MMP-1

Parmi les marqueurs de choix de la réponse aux UV, figurent les enzymes de la famille des métalloprotéinases de la matrice ou MMPs, responsables des processus de remodelage, de dégradation ou de modification de l'environnement matriciel. Cette famille d'enzymes protéoly-

tiques peut être subdivisée en sous-groupes dont les plus connus sont les collagénases, les gélatinases, les stromélysines ou les MMPs associées à la membrane (MT-MMPs), chaque sous-groupe ayant des spécificités notamment de substrats (Kahari & Saarialho-Kere, 1999). La MMP-1 ou collagénase interstitielle est une MMP particulièrement intéressante dans l'analyse de la réponse aux UVs (Fisher *et al.*, 1996). Son implication semble primordiale dans le photovieillissement et dans les photocancers. En effet les altérations de la matrice extracellulaire liées au processus de photovieillissement aboutissent à une diminution importante du contenu global et de la synthèse de collagènes de type I et III (Talwar *et al.*, 1995 ; Varani *et al.*, 2001). Des études ont montré une induction de la MMP1 dans la peau normale après exposition UVB, UVA ou SSR (Fagot *et al.*, 2002 ; Fagot *et al.*, 2004 ; Lahmann *et al.*, 2001 ; Scharfetter *et al.*, 1991) ainsi qu'une augmentation dans le derme de la peau photoâgée (Chung *et al.*, 2001). La MMP1 est aussi clairement impliquée dans les phéno-

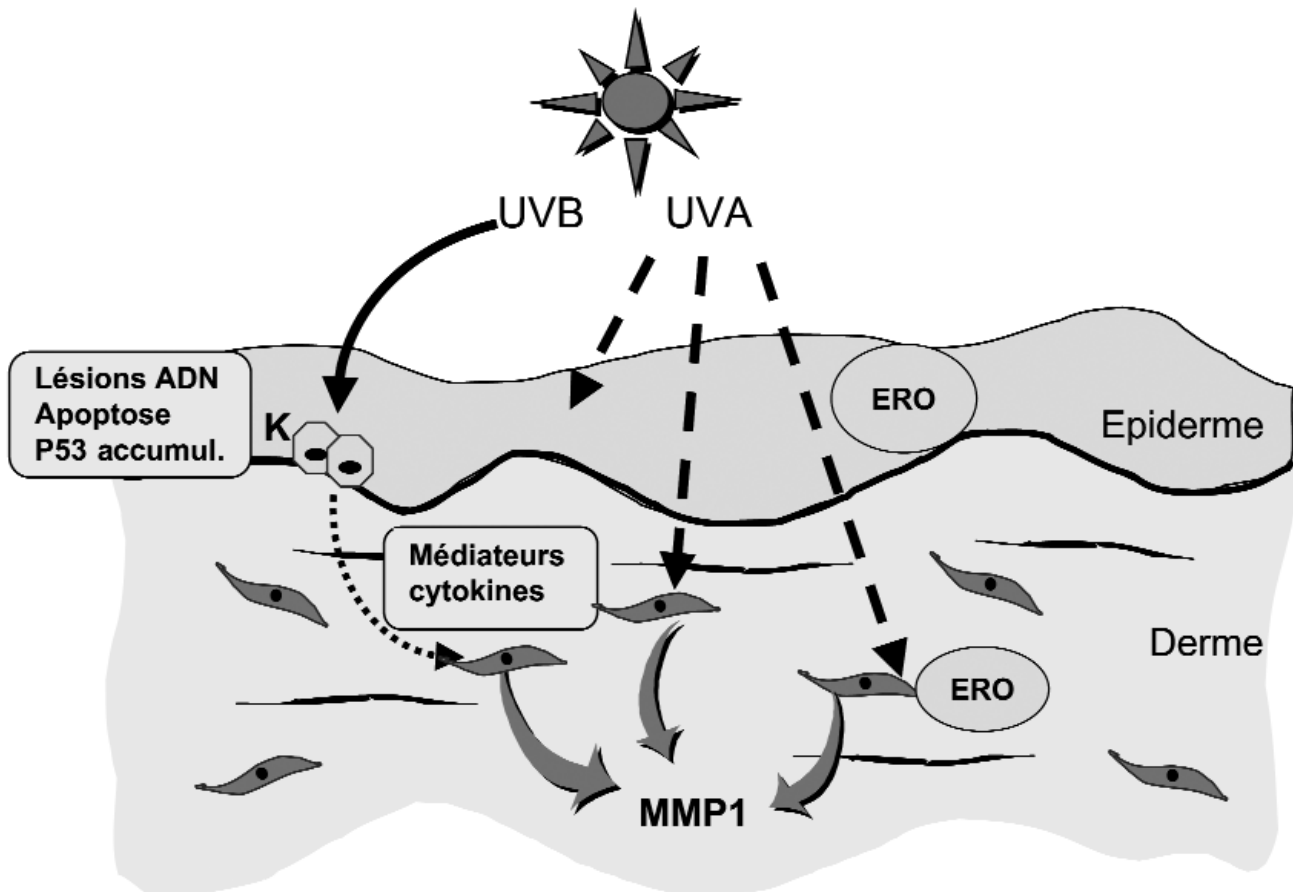


FIG. 2. – Schéma récapitulatif des effets biologiques observés après expositions UVB ou UVA. Les dommages directs induits par les UVB sont essentiellement épidermiques. Les dommages directs induits par les UVA sont localisés dans les deux compartiments mais les altérations sont plus importantes dans le derme du fait de la sensibilité du fibroblaste dermique aux espèces réactives de l'oxygène (ERO). Le fibroblaste dermique est aussi le type cellulaire responsable de la production de MMP1 après exposition UV. Cette induction résulte d'une action directe des rayonnements UV lorsqu'ils atteignent le compartiment dermique, en particulier les UVA et d'un mécanisme paracrine indirect *via* des médiateurs épidermiques, comme l'IL1 $\alpha$  ou l'IL6.

mènes de carcinogenèse (Ala-aho & Kahari, 2005). L'utilisation de la peau reconstruite comprenant les deux types cellulaires a permis d'appréhender le rôle respectif des kératinocytes et des fibroblastes dans la production de MMP-1 après exposition UV.

Une augmentation de la production de la MMP1 dans le modèle de peau reconstruite est observée après exposition UVB, UVA mais aussi après exposition en simulation solaire. Dans le cas d'exposition UVB mais pas dans celui d'une exposition UVA, la présence de l'épiderme est indispensable à cette augmentation. D'autre part l'exposition d'un épiderme reconstruit en absence de fibroblastes ne permet pas d'observer l'induction de la MMP1. Des expériences complémentaires ont permis de mettre en évidence le rôle indirect des kératinocytes dans la production fibroblastique de la MMP1 et de confirmer la participation de médiateurs épidermique solubles, en particulier les interleukines 1 et 6 (Fagot *et al.*, 2002; Fagot *et al.*, 2004; Wlaschek *et al.*, 1993). Le fibroblaste est donc la seule cellule productrice de MMP-1 en réponse aux expositions UV, directement dans le compartiment dermique dans le cas des UVA et de façon indirecte pour les UVB. Ces résultats ont permis de mieux définir la participation du compartiment épidermique et la contribution des effets épidermiques UVB dans les dommages localisés dans la profondeur de la peau (Fig. 2).

### RÉPARATION DES LÉSIONS DE L'ADN-PEAU RECONSTRUITE XERODERMA PIGMENTOSUM

Les lésions de l'ADN induites par les UV sont normalement réparées par des systèmes enzymatiques spécialisés, qui assurent le maintien de l'intégrité du patrimoine génétique. Si ces dommages persistent ils peuvent conduire après réplication à l'apparition de mutations, elles mêmes à l'origine du développement tumoral. La réparation des lésions induites par les UVB est principalement assurée par le mécanisme d'« excision de nucléotides et synthèse réplivative » (NER, *nucleotide excision repair*) (de Boer & Hoeijmakers, 2000) qui, par étapes successives, reconnaît la lésion, excise le brin lésé et le resynthétise. Le *Xeroderma pigmentosum* (XP) est une maladie génétique rare, caractérisée par un défaut de réparation des lésions de l'ADN, dû à une mutation dans l'un des gènes *xp* impliqués dans les étapes précoces du processus de NER. Les patients XP présentent une sensibilité extrême au soleil, un vieillissement accéléré mais surtout une prédisposition précoce et exacerbée aux tumeurs cutanées d'origine épidermique sur les zones exposées (Kraemer, 1997; Magnaldo & Sarasin, 2004). Pour d'évidentes raisons éthiques il est impensable d'étudier *in vivo* la réponse aux UV chez ces patients. Nous avons pu reconstruire de la peau *in vitro* à partir de kératinocytes et de fibroblastes isolés de petites biopsies de peau XP-groupe C (XP-C) (Bernerd *et al.*, 2001). Les kératinocytes XP-C ont permis d'obtenir un épiderme de

morphologie générale satisfaisante mais présentant des anomalies subtiles de différenciation et de prolifération épidermique et une sur-expression des chaînes d'intégrines  $\alpha 6$  et  $\beta 1$ . La réponse aux UVB a pu être analysée dans ce système et a permis de reproduire le défaut majeur de cette pathologie à savoir un déficit de la réparation des lésions de type CPDs (Bernerd *et al.*, 2005) (Fig. 3). Les fibroblastes XP-C incorporés dans l'équivalent de derme ont dévoilé une influence tout à fait particulière sur le kératinocyte épidermique. Ainsi les kératinocytes cultivés sur un derme équivalent comprenant des fibroblastes XP-C présentent des figures d'invaginations épidermiques dont l'histologie rappelle les processus précoces de cancérogenèse cutanée. L'analyse plus approfondie du phénotype du fibroblaste XP-C a révélé des caractéristiques morphologiques particulières, corps cellulaires très longs et dendritiques, orientation perpendiculaire à la jonction dermo-épidermique. Une surexpression constitutive de la MMP1 a été mise en évidence dans ces fibroblastes. Elle résulte d'une activation de la voie AP1, induisant une activité transcriptionnelle beaucoup plus importante du gène *MMP1* dans les fibroblastes XP-C comparés aux fibroblastes normaux. Ces résultats démontrent un phénotype particulier du fibroblaste XPC et suggèrent un rôle potentiel tout particulièrement dans les interactions de type stroma-épithélium (Zigrino *et al.*, 2005), dans le développement des signes cliniques de cette pathologie, carcinogenèse et vieillissement prématuré.

### CORRECTION DES ALTÉRATIONS DU PHOTOVIEILLISSEMENT : VITAMINE C ET JONCTION DERMO-ÉPIDERMIQUE

Le rôle protecteur de la peau est aussi assuré par une forte cohésion entre les deux compartiments de la peau (Burgeson & Christiano, 1997). La jonction dermo-épidermique (JDE) est aussi cruciale en terme d'échanges entre le derme et l'épiderme et participe à la régulation et au contrôle de la prolifération et de la différenciation épidermique. Durant le processus de vieillissement, la structure de la jonction dermo-épidermique subit des altérations aboutissant à une perte du relief de la JDE, des duplications de lame basale et une diminution importante des structures d'ancrage comme les fibres de collagène VII (Craven *et al.*, 1997). L'une des molécules actives majeures pour améliorer ou corriger ces altérations est la vitamine C (Nusgens *et al.* 2001). Les effets bénéfiques de la vitamine C ont pu être mis en évidence dans la peau reconstruite. L'addition de vitamine C accélère le dépôt des protéines de la membrane basale comme les collagènes de type IV, et VII, des protéines de la matrice extracellulaire, procollagènes de type I et III, ténascine C et fibrilline 1, localisées dans la zone sous-épidermique correspondant au derme papillaire. L'analyse des ARN messagers par PCR quantitative en temps réel, dans les deux types cellulaires isolés séparément, a montré que la vitamine C agissait au niveau transcriptionnel dans les fibroblastes pour les gènes des procolla-

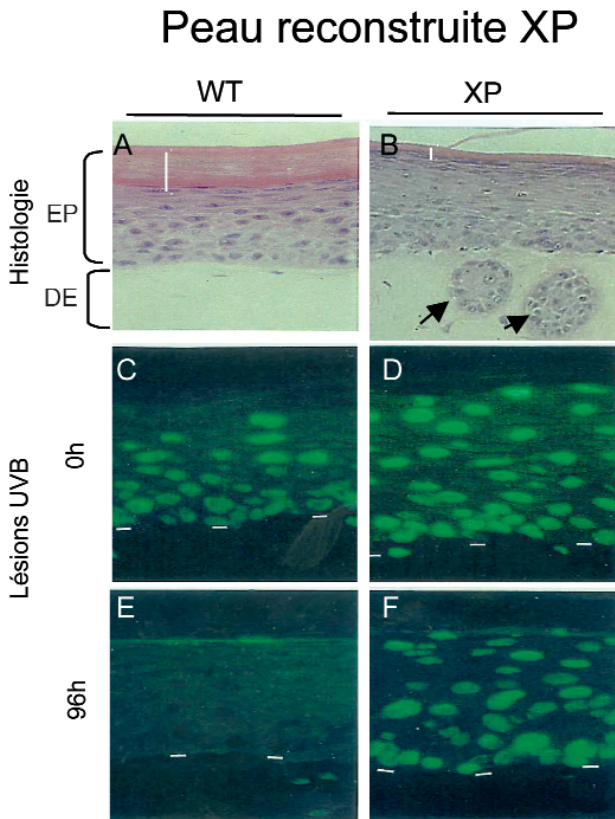


FIG. 3. – Peau reconstruite réalisée avec des cellules *Xeroderma pigmentosum* (XP groupe C). L'analyse en histologie montre que l'épiderme (EP) réalisé avec des kératinocytes XP-C (B) présente une couche cornée plus fine que celle de l'épiderme normal (A). La formation d'invaginations épidermiques est observée lorsque le derme (DE) équivalent est réalisé avec des fibroblastes XP-C (flèches) (B). Les lésions de l'ADN de type dimères de pyrimidines (C et D), induites par une exposition UVB, sont totalement réparées après 4 jours dans le cas des kératinocytes normaux (E) et persistent dans le cas des kératinocytes XP (F), attestant la déficience en réparation caractéristique de cette maladie génétique.

gènes I et II, de la fibrilline 1, alors que pour d'autres marqueurs la régulation est traductionnelle ou post-traductionnelle.

Plus important encore, la possibilité d'induire *de novo* dans ce modèle une morphogenèse complète de la JDE nous a poussés à mieux appréhender les rôles respectifs du kératinocyte et du fibroblaste dans la synthèse et la distribution des protéines de la JDE (Marinkovich *et al.*, 1993 ; Smola *et al.*, 1998). L'utilisation conjuguée du modèle complet et de deux modèles modifiés ne contenant que l'un des types cellulaires a permis de déterminer l'origine cellulaire de chaque composant de la JDE, sa distribution spatiale et les interactions entre fibroblaste et kératinocyte dans la synthèse et la localisation de ces marqueurs. Trois groupes de gènes ont été identifiés : 1) les gènes d'origine fibroblastique (*col I $\alpha$ 1*, *col III $\alpha$ 1*, *nidogène*, *fibrilline 1*), 2) ceux d'origine kératinocytaire et fibroblastique (*col IV $\alpha$ 1*, *col VII $\alpha$ 1*, *tenascine C*) dont le profil d'expression est symétrique entre les deux types

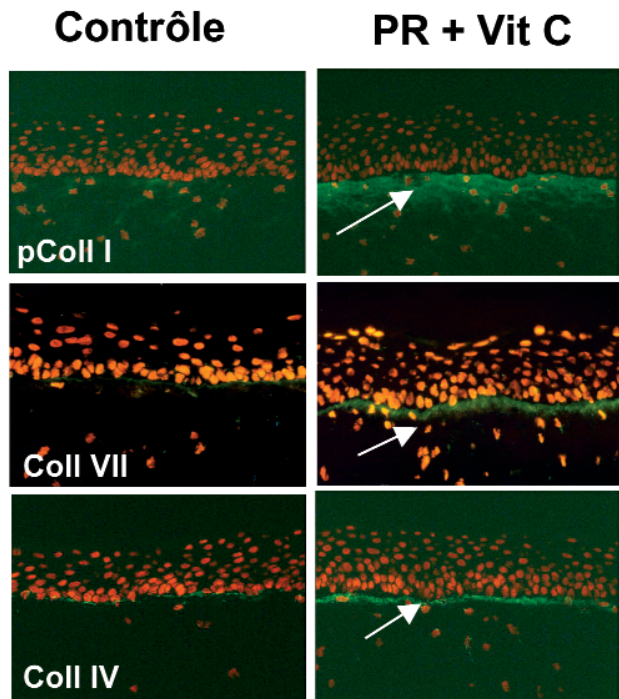


FIG. 4. – Effets biologiques observés au niveau de la jonction dermo-épidermique après traitement de la peau reconstruite (PR) avec la vitamine C. Les cultures sont réalisées de façon classique avec ou sans ajout de vitamine C pendant la phase d'émersion de la culture (interface air-liquide). On note une augmentation localisée à la jonction dermo-épidermique de l'intensité des immunomarquages pour le pro-collagène 1 (pColl I), le collagène VII (coll VII) et le collagène IV (Coll IV).

cellulaires, et 3) la *laminine  $\beta$ 3* exprimée exclusivement dans les kératinocytes. Les kératinocytes agissent en régulant négativement les ARNm et la production des protéines d'origine fibroblastique, stimule la synthèse de collagène VII dans les fibroblastes et sont absolument nécessaires pour une distribution correcte dans la zone jonctionnelle des protéines d'origine fibroblastique. Les fibroblastes régulent de façon positive les ARNm d'origine kératinocytaire et sont nécessaires pour la localisation extracellulaire au niveau de la JDE du collagène VII, et de la laminine 5. Ces données apportent des éléments complémentaires aux travaux antérieurs sur les interactions fines entre les deux types cellulaires à différents niveaux de régulation de l'expression des protéines de la zone jonctionnelle et de leur localisation.

## CONCLUSION

L'ensemble de ces travaux apporte une vision globale et tissulaire de la réponse aux rayonnements UV et souligne l'intérêt des modèles tri-dimensionnels *in vitro* dans des questions plus générales de biologie cellulaire. Ils permettent, par le contrôle des éléments cellulaires présents et de leur origine, la possibilité de réaliser des

études cinétiques, d'appréhender le rôle respectif des deux acteurs cellulaires majeurs de la peau, le kératinocyte et le fibroblaste de même que leurs interactions. Le modèle permet ainsi de reproduire *in vitro* des évènements décrits dans la peau humaine, mais aussi de révéler des altérations insoupçonnées attestant de l'aspect prédictif de cet outil. L'utilisation de ces modèles trouve aussi des retombées pour l'étude de la sécurité ou de l'efficacité de certains molécules à visée de photoprotection (filtres solaires par exemple) (Bernerd *et al.*, 2003), ou de correction des dommages. La recherche permanente d'améliorations, notamment par l'incorporation d'autres types cellulaires, devrait permettre de rendre ces modèles encore plus performants.

**Remerciements.** – Je voudrais remercier très chaleureusement toutes les personnes qui ont participé à ces études au sein du laboratoire, Mesdames Corinne VIOUX-CHAGNOLEAU, Claire MARIONNET, Cécile PIERRARD et Juliette SOK, Messieurs Daniel ASSELINEAU, François LEJEUNE, François CHRISTIAENS, et Dominique FAGOT. Je remercie aussi Thierry MAGNALDO et Alain SARASIN pour leur contribution essentielle dans le projet de collaboration *Xeroderma pigmentosum*, ainsi que Mathilde FRECHET pour les études du fibroblaste XP-C.

## BIBLIOGRAPHIE

- Ala-aho R. & Kahari V. M., Collagenases in cancer. *Biochimie*, 2005, 87, 273-286.
- Asselineau D., Bernhard B., Bailly C. & Darmon M., Epidermal morphogenesis and induction of the 67 kD keratin polypeptide by culture of human keratinocytes at the liquid-air interface. *Exp. Cell. Res.*, 1985, 159, 536-539.
- Bell E., Sher S., Hull B., Merrill C., Rosen S., Chamson A., Asselineau D., Dubertret L., Coulomb B., Lapiere C., Nusgens B. & Neveux Y., The reconstitution of living skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1983, 81, 2s-10s.
- Bernerd F. & Asselineau D., Successive alteration and recovery of epidermal differentiation and morphogenesis after specific UVB-damages in skin reconstructed *in vitro*. *Dev. Biol.*, 1997, 183, 123-138.
- Bernerd F. & Asselineau D., UVA exposure of human skin reconstructed *in vitro* induces apoptosis of dermal fibroblasts: subsequent connective tissue repair and implications in photoaging. *Cell. Death. Differ.*, 1998, 5, 792-802.
- Bernerd F., Asselineau D., Frechet M., Sarasin A. & Magaldo T., Reconstruction of DNA repair-deficient *Xeroderma pigmentosum* skin *in vitro*: a model to study hypersensitivity to UV light. *Photochem. Photobiol.*, 2005, 81, 19-24.
- Bernerd F., Asselineau D., Vioux C., Chevallier-Lagente O., Bouadjar B., Sarasin A. & Magaldo T., Clues to epidermal cancer proneness revealed by reconstruction of DNA repair-deficient *Xeroderma pigmentosum* skin *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, 7817-7822.
- Bernerd F., Vioux C., Lejeune F. & Asselineau D., The sun protection factor (SPF) inadequately defines broad spectrum photoprotection: demonstration using skin reconstructed *in vitro* exposed to UVA, UVB or UV-solar simulated radiation. *Eur. J. Dermatol.*, 2003, 13, 242-249.
- Burgeson R. E. & Christiano A. M., The dermal-epidermal junction. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 1997, 9, 651-658.
- Chen V. L., Fleischmajer R., Schwartz E., Palaia M. & Timpl R., Immunochemistry of elastic material in sun-damaged skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1986, 87, 334-337.
- Chung J. H., Seo J. Y., Choi H. R., Lee M. K., Youn C. S., Rhie G., Cho K. H., Kim K. H., Park K. C. & Eun H. C., Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin *in vivo*. *J. Invest. Dermatol.*, 2001, 117, 1218-1224.
- Craven N. M., Watson R. E., Jones C. J., Shuttleworth C. A., KIELTY C. M. & Griffiths C. E., Clinical features of photo-damaged human skin are associated with a reduction in collagen VII. *Br. J. Dermatol.*, 1997, 137, 344-350.
- de Boer J. & Hoeijmakers J. H., Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis*, 2000, 21, 453-460.
- Eller M. S., Repair of DNA photodamage in human skin. In *Photodamage*, Gilchrest B. A., Cambridge USA, 1995, 26-50.
- Elmets C. A., Cutaneous photocarcinogenesis. In *Pharmacology of the skin, Series in Pharmacology and Toxicology*, Mukhtar H., Boca Raton, Florida, 1992, 389-416.
- Fagot D., Asselineau D. & Bernerd F., Direct role of human dermal fibroblasts and indirect participation of epidermal keratinocytes in MMP-1 production after UV-B irradiation. *Arch. Dermatol. Res.*, 2002, 293, 576-583.
- Fagot D., Asselineau D. & Bernerd F., Matrix metalloproteinase-1 production observed after solar-simulated radiation exposure is assumed by dermal fibroblasts but involves a paracrine activation through epidermal keratinocytes. *Photochem. Photobiol.*, 2004, 79, 499-505.
- Fisher G. J., Datta S. C., Talwar H. S., Wang Z. Q., Varani J., Kang S. & Voorhees J. J., Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature*, 1996, 379, 335-339.
- Gilchrest B. A., Dermatoheliosis (Sun-induced aging). In *Photodamage*, Gilchrest B. A., Cambridge USA, 1995, 97-116.
- Kahari V. M. & Saarialho-Kere U., Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. *Ann. Med.*, 1999, 31, 34-45.
- Kraemer K. H., Sunlight and skin cancer: another link revealed. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 11-14.
- Lahmann C., Young A. R., Wittern K. P. & Bergemann J., Induction of mRNA for matrix metalloproteinase 1 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in human skin *in vivo* by solar simulated radiation. *Photochemistry and Photobiology*, 2001, 73, 657-663.
- Lavker R. M., Cutaneous aging: chronologic versus photoaging. In *Photodamage*, Gilchrest B. A., Cambridge USA, 1995, 123-135.
- Magaldo T. & Sarasin A., *Xeroderma pigmentosum*: from symptoms and genetics to gene-based skin therapy. *Cells Tissues Organs*, 2004, 177, 189-198.
- Marinkovich M. P., Keene D. R., Rimborg C. S. & Burgeson R. E., Cellular origin of the dermal-epidermal basement membrane. *Dev. Dyn.*, 1993, 197, 255-267.
- Moysan A., Clement-Lacroix P., Michel L., Dubertret L. & Morliere P., Effects of ultraviolet A and antioxidant defense in cultured fibroblasts and keratinocytes. *Photodermatol Photoimmunol. Photomed.*, 1996, 11, 192-197.
- Nusgens B. V., Humbert P., Rougier A., Colige A. C., Haftek M., Lambert C. A., Richard A., Creidi P. & Lapiere C. M., Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, their processing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the human dermis. *J. Invest. Dermatol.*, 2001, 116, 853-859.
- Regnier M., Asselineau D. & Lenoir M. C., Human epidermis reconstructed on dermal substrates *in vitro*: an alternative to animals in skin pharmacology. *Skin Pharmacol.*, 1990, 3, 70-85.
- Roza L., De Gruij F. R., Bergen Henegouwen J. B., Guikers K., Van Weelden H., Van Der Schans G. P. & Baan R. A., Detection of photorepair of UV-induced thymine dimers in human epidermis by immunofluorescence microscopy. *J. Invest. Dermatol.*, 1991, 96, 903-907.
- Scharffetter K., Wlaschek M., Hogg A., Bolsen K., Schothorst A., Goerz G., Krieg T. & Plewig G., UVA irradiation induces

- collagenase in human dermal fibroblasts *in vitro* and *in vivo*. *Arch. Dermatol. Res.*, 1991, 283, 506-511.
- Smola H., Stark H. J., Thiekotter G., Mirancea N., Krieg T. & Fusenig N. E., Dynamics of basement membrane formation by keratinocyte-fibroblast interactions in organotypic skin culture. *Exp. Cell. Res.*, 1998, 239, 399-410.
- Soter N. A., Sunburn and suntan: immediate manifestations of photodamage. In *Photodamage*, Gilchrist B. A., Cambridge USA, 1995, 12-25.
- Talwar H. S., Griffiths C. E., Fisher G. J., Hamilton T. A. & Voorhees J. J., Reduced type I and type III procollagens in photodamaged adult human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1995, 105, 285-290.
- Tyrrell R. M. & Keyse S. M., New trends in photobiology. The interaction of UVA radiation with cultured cells. *J. Photochem. Photobiol. B*, 1990, 4, 349-361.
- Varani J., Spearman D., Perone P., Fligel S. E., Datta S. C., Wang Z. Q., Shao Y., Kang S., Fisher G. J. & Voorhees J. J., Inhibition of type I procollagen synthesis by damaged collagen in photoaged skin and by collagenase-degraded collagen *in vitro*. *Am. J. Pathol.*, 2001, 158, 931-942.
- Wlaschek M., Bolsen K., Herrmann G., Schwarz A., Wilmroth F., Heinrich P. C., Goerz G. & Scharffetter-Kochanek K., UVA-induced autocrine stimulation of fibroblast-derived collagenase by IL-6: a possible mechanism in dermal photodamage? *J. Invest. Dermatol.*, 1993, 101, 164-168.
- Young A. R., The sunburn cell. *Photodermatol.*, 1987, 4, 127-134.
- Ziegler A., Jonason A. S., Leffell D. J., Simon J. A., Sharma H. W., Kimmelman J., Remington L., Jacks T. & Brash D. E., Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature*, 1994, 372, 773-776.
- Zigrino P., Loffek S. & Mauch C., Tumor-stroma interactions: their role in the control of tumor cell invasion. *Biochimie*, 2005, 87, 321-328.
-