

## INHIBITION DE L'ACTIVITÉ ÉLASTOLYTIQUE DE LA CATHEPSINE S À L'AIDE DE PEPTIDES

### BIOMIMÉTIQUES CYCLIQUES

### TARGETING ELASTIN-BINDING EXOSITE IN CATHEPSIN S BY MACROCYCLIC PEPTIDE INHIBITORS

**Etablissement** Université de Tours

**École doctorale** Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant - SSBCV

**Spécialité** Biologie

**Domaine Scientifique** Biologie, médecine et santé

**Unité de recherche** Centre d'Etudes des Pathologies Respiratoires

**Encadrement de la thèse** Fabien LECAILLE

**Co-Directeur** Vincent AUCAGNE

**Financement** du 01-10-2026 au 30-09-2029 *origine* Loire Val Health

### Cotutelle FRANCE

*Début de la thèse le* 1 octobre 2026

*Date limite de candidature (à 23h59)* 31 mars 2026

Santé

### Mots clés - Keywords

Protéases, Peptides, Elastine, Poumon, BPCO, Inhibiteur

Proteases, Peptides, Elastin, Lung, COPD, Inhibitor

### Description de la problématique de recherche - Project description

La dégradation protéolytique des fibres d'élastine est associée à un large spectre d'états pathologiques tels que l'athérosclérose, l'emphysème pulmonaire ou la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO). La cathepsine S (CatS) est une protéase connue pour participer à l'activité élastolytique (dégradation de l'élastine) et est surexprimée de façon aberrante dans les pathologies susmentionnées. La cinétique de liaison de la CatS à l'élastine insoluble a montré que le processus se déroule en deux étapes. L'enzyme est initialement adsorbée (via un domaine appelé exosite situé en dehors du site catalytique) à la surface de l'élastine de manière non productive, puis se réorganise pour former un complexe catalytiquement compétent. Le projet de thèse proposé repose sur l'hypothèse selon laquelle l'entrave de l'interaction entre l'exosite de la CatS et les fibres interstitielles d'élastine inhiberait sélectivement l'activité élastolytique de la CatS tout en préservant ses autres activités biologiques. Cette stratégie novatrice, en utilisant des peptides cycliques mimant cet exosite, offrirait ainsi une approche thérapeutique potentielle pour traiter les maladies liées à la dégradation excessive de l'élastine par l'enzyme qui est surexprimée en conditions inflammatoires.

Proteolytic degradation of elastin fibers is associated with a wide spectrum of pathological conditions such as atherosclerosis, pulmonary emphysema, or chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Cathepsin S (CatS) is a protease known to participate in elastin degradation (elastolytic activity) and is aberrantly overexpressed in the aforementioned pathologies. The kinetics of CatS binding to insoluble elastin showed that the process occurs in two steps. The enzyme is initially adsorbed (via a domain called exosite located outside the catalytic site) on the surface of elastin in a non-productive manner and then rearranges to form a catalytically competent complex. The proposed thesis project is based on the hypothesis that hindering the interaction between the CatS exosite and interstitial elastin fibers would selectively inhibit the elastolytic activity of CatS while preserving its other biological activities. This innovative strategy, using cyclic peptides mimicking this exosite, would thus offer a potential therapeutic approach to treat diseases related to the excessive degradation of elastin by the enzyme which is overexpressed in inflammatory conditions.

### Thématique / Domaine / Contexte

L'équipe du CEPR s'intéresse notamment aux relations qui existent entre les protéases pulmonaires et leur microenvironnement dans des conditions pathologiques (fibrose, emphysème, bronchopneumopathie chronique obstructive : BPCO), en particulier les composants de la matrice extracellulaire (MEC), qui au sein des tissus constituent de véritables unités fonctionnelles. La régénération de l'épithélium respiratoire peut, en conditions inflammatoires, aboutir à un remodelage chronique, altérant l'homéostasie et l'architecture de la MEC. Ces lésions sont à l'origine d'un dysfonctionnement de la fonction bronchique et épithéliale décrit dans des pathologies respiratoires comme la BPCO. Au cours du processus inflammatoire, les phagocytes (polynucléaires neutrophiles et monocytes/macrophages) vont libérer des protéases, notamment des cathepsines à cystéine dont l'activité protéolytique est supérieure à l'activité anti-protéasique de leurs inhibiteurs endogènes, entraînant une destruction excessive du tissulaire pulmonaire<sup>1</sup>. Notamment, la dégradation des fibres élastiques du poumon en peptides solubles d'élastine est une caractéristique de la BPCO. Bien que l'élastine soit très résistante à la dégradation protéolytique, très peu de protéases humaines peuvent hydrolyser les fibres d'élastine interstitielles insolubles. Parmi les protéases impliquées dans l'hydrolyse de l'élastine, la cathepsine à cystéine S (CatS) contribue aux états pathologiques chroniques de la BPCO. La progression de cette maladie dépend en grande partie des niveaux accrus de CatS extracellulaire et de la fragmentation étendue de l'élastine par la CatS. Ce rôle important dans la dégradation de l'élastine fait de la CatS une cible très attractive pour le traitement thérapeutique de cette maladie. Au cours des dernières décennies, des efforts importants ont été déployés pour développer des inhibiteurs de la CatS. Cependant, tous les composés développés jusqu'à présent ciblent uniquement le site actif de la CatS, pouvant potentiellement entraîner des effets secondaires graves liés à l'inhibition totale de la CatS. Ainsi, de nouvelles approches thérapeutiques sont nécessaires pour développer des inhibiteurs de la CatS, ciblant uniquement son activité élastolytique, sans affecter ses autres activités physiologiques.

De façon intéressante, des études précédentes ont proposé un mécanisme en deux étapes pour l'hydrolyse de l'élastine par la CatS : premièrement, une adsorption non catalytique sur la surface de l'élastine via une interaction protéine/protéine, suivie de la formation d'une structure protéolytiquement active précédant la phase de désorption. De plus, des expériences de mutagenèse dirigée ont permis d'identifier un domaine appelé exosite, possédant une structure secondaire en épingle à cheveux, situé loin du site actif de la CatS, et qui contribue de manière cruciale à la dégradation de l'élastine. Dans cette étude, les auteurs suggèrent que la CatS utilise un site distinct de liaison à l'élastine en plus du site actif connu, nécessaire au clivage de l'élastine.

## Objectifs

Avec ce projet transdisciplinaire, nous visons à concevoir, synthétiser et caractériser une série de peptides macrocycliques innovants, conformationnellement contraints, mimant la boucle en épingle à cheveux de la CatS, qui se lie à l'élastine. Ces peptides auront pour but de présenter des propriétés remarquables d'interaction avec l'élastine insoluble pouvant ainsi inhiber sélectivement l'activité élastolytique de la CatS *in vitro* et également dans dans un modèle *ex vivo*. Ce projet ouvrira une voie alternative et très innovante pour prévenir l'élastolyse médiaée par la CatS, sans affecter ses autres activités physiologiques.

## Méthode

Le travail de thèse s'articulera autour de 3 tâches principales :

Tâche 1- Synthèse et analyse structurale de peptides cycliques mimant la CatS.

Tâche 2- Evaluation de la capacité des peptidomimétiques cycliques à interagir avec l'élastine et à inhiber l'activité élastolytique de la CatS.

Tâche 3-Etude des peptidomimétiques cycliques sur des modèles *in vitro*, *ex-* et *in-vivo*.

## Résultats attendus - Expected results

Nous avons au préalable synthétisé avec le Dr. Aucagne (CBM) une série de peptides chevauchants, couvrant toute la séquence de la région hautement structurée en épingle à cheveux de la CatS. Les résultats préliminaires montrent que parmi les peptides testés, un peptide linéaire inhibe efficacement l'activité élastolytique de la CatS, alors qu'il n'a aucun impact *in vitro* sur les autres substrats biologiques de l'enzyme. De façon encourageante, la cyclisation du peptide par l'introduction d'une liaison entre deux cystéine améliore significativement sa propriété inhibitrice élastolytique *in vitro*, ainsi que sa résistance à la protéolyse, démontrant la faisabilité du projet.

## Références bibliographiques

- Pandey KC, De S, Mishra PK. Role of Proteases in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Front Pharmacol*. 2017 Aug 8;8:512. doi: 10.3389/fphar.2017.00512.
- Geraghty P, Greene CM, O'Mahony M, O'Neill SJ, Taggart CC, McElvaney NG. Secretory leucocyte protease inhibitor inhibits interferon-gamma-induced cathepsin S expression. *J Biol Chem*. 2007 Nov 16;282(46):33389-33395. doi: 10.1074/jbc.M706884200.
- Zheng T, Zhu Z, Wang Z, Homer RJ, Ma B, Riese RJ Jr, Chapman HA Jr, Shapiro SD, Elias JA. Inducible targeting of IL-13 to the adult lung causes matrix metalloproteinase- and cathepsin-dependent emphysema. *J Clin Invest*. 2000 Nov;106(9):1081-93. doi: 10.1172/JCI10458.
- Andrault PM, Schamberger AC, Chazeirat T, Sizaret D, Renault J, Staab-Weijnitz CA, Hennen E, Petit-Courty A, Wartenberg M, Saidi A, Baranek T, Guyetant S, Courty Y, Eickelberg O, Lalmanach G, Lecaille F. Cigarette smoke induces overexpression of active human cathepsin S in lungs from current smokers with or without COPD. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2019 Nov 1;317(5):L625-L638. doi: 10.1152/ajplung.00061.2019.
- Helske S, Syväraanta S, Lindstedt KA, Lappalainen J, Oörni K, Mäyränpää MI, Lommi J, Turto H, Werkkala K, Kupari M, Kovanen PT.

- Increased expression of elastolytic cathepsins S, K, and V and their inhibitor cystatin C in stenotic aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Aug;26(8):1791-8. doi: 10.1161/01.ATV.0000228824.01604.63.
- Smyth P, Sasiwachirangkul J, Williams R, Scott CJ. Cathepsin S (CTSS) activity in health and disease - A treasure trove of untapped clinical potential. *Mol Aspects Med.* 2022 Dec;88:101106. doi: 10.1016/j.mam.2022.101106.
- Yoo Y, Choi E, Kim Y, Cha Y, Um E, Kim Y, Kim Y, Lee YS. Therapeutic potential of targeting cathepsin S in pulmonary fibrosis. *Biomed Pharmacother.* 2022 Jan;145:112245. doi: 10.1016/j.bioph.2021.112245.
- Brown R, Nath S, Lora A, Samaha G, Elgamal Z, Kaiser R, Taggart C, Weldon S, Geraghty P. Cathepsin S: investigating an old player in lung disease pathogenesis, comorbidities, and potential therapeutics. *Respir Res.* 2020 May 12;21(1):111. doi: 10.1186/s12931-020-01381-5.
- Novinec M, Grass RN, Stark WJ, Turk V, Baici A, Lenarcic B. Interaction between human cathepsins K, L, and S and elastins: mechanism of elastinolysis and inhibition by macromolecular inhibitors. *J Biol Chem.* 2007 Mar 16;282(11):7893-902. doi: 10.1074/jbc.M610107200.
- Andrault PM, Panwar P, Brömme D. Characterization of cathepsin S exosites that govern its elastolytic activity. *Biochem J.* 2020 Jan 17;477(1):227-242. doi: 10.1042/BCJ20190847.
- Lecaille, F, Lalmanach G, Andrault PM. Antimicrobial proteins and peptides in human lung diseases: A friend and foe partnership with host proteases. *Biochimie* 2016 Mar;122:151-68. doi:v10.1016/j.biochi.2015.08.014.

## **Contexte du poste : Modalités d'encadrement, de suivi de la formation et d'avancement des recherches du doctorant - Details on the thesis supervision**

Le programme de la thèse co-dirigée par le Pr. Lecaille et le Dr. Aucagne nécessitera 36 mois pour son achèvement. Le(a) doctorant(e) participera (séjours courts) à la synthèse et à la purification des peptidomimétiques au CBM (Orléans) sous la direction du Dr. Aucagne tandis que la majeure partie de son activité expérimentale sera réalisée au CEPR (Tours) sous la direction du Pr. Lecaille. L'état d'avancement des recherches du/de la doctorant(e) se fera par des réunions bi-mensuelles en distanciel entre les 2 structures.

## **Conditions scientifiques matérielles et financières du projet de recherche**

Bien que se basant sur des approches méthodologiques solidement établies et maîtrisées au sein des 2 partenaires, notre démarche se veut originale et innovante dans le cadre d'une recherche visant à terme à une meilleure compréhension de la régulation de l'activité élastolytique de la cathepsine S de patients atteints de pathologies liées à une altération exacerbée des fibres d'élastine. Les moyens techniques (biochimie, chimie, culture cellulaire) et scientifiques nécessaires à la réalisation de ce projet sont disponibles et opérationnels.

## **Ouverture Internationale**

Le(a) doctorant(e) recruté(e) sur le projet effectuera un séjour (1-2 mois) à l'international dans le laboratoire académique du Pr. Sergey Samsonov (Laboratoire de Modélisation Moléculaire, Faculté de Chimie, Université de Gdansk, Gdansk, Pologne). Ce séjour permettra au (à la) doctorant(e) de se familiariser aux outils de bioinformatique et de modélisation moléculaire (étude de docking et dynamique moléculaire) afin d'étudier les interactions entre les peptides dérivés de l'exosite de la cathepsine S et l'élastine.

## **Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle,...**

Les travaux de thèse pourront être valorisés en fonction des résultats obtenus par un(des) article(s) original(aux) publié(s) (indexés à comité de lecture) ou par un dépôt de brevet.

## **Profil et compétences recherchées - Profile and skills required**

Le(la) candidat(e) devra être dynamique, compétente et fortement motivé(e) pour travailler sur un projet interdisciplinaire innovant à la frontière entre chimie des peptides et biologie.

Qualifications et expérience:

Le(a) candidat(e) aura idéalement une formation académique principalement en biochimie et/ou biologie moléculaire et cellulaire. Les techniques recherchées incluent des techniques classiques de biochimie (électrophorèse, chromatographie en FPLC, HPLC, la culture cellulaire, l'expression de protéines recombinantes). Des connaissances théoriques en enzymologie et en bioinformatique seraient appréciées.

Qualifications personnelles:

- Autonomie, rigueur
- Capacité à travailler en équipe
- Aptitude à analyser et à communiquer efficacement des résultats

Seules les personnes préselectionnées seront contactées

The ideal candidate will be dynamic, skilled, and highly motivated to work on an innovative interdisciplinary project at the interface of peptide chemistry and biology.

Qualifications and Experience: Ideally, the candidate will have an academic background primarily in biochemistry and secondly in molecular and cellular biology. Required skills include standard biochemical techniques (electrophoresis, FPLC, HPLC, cell culture, recombinant protein expression). Theoretical knowledge of enzymology and bioinformatics would be an asset.

Applicants should hold a Master's degree in biochemistry, or molecular and cellular biology.

Personal qualifications:

- Autonomy, rigor
- Ability to work in a team
- Ability to analyze and communicate results effectively

Only shortlisted candidates will be contacted

Dernière mise à jour le 12 février 2026