

RESEARCH SUBJECTS OF MASTER 2 BIOLOGY-HEALTH COURSE DIABETES AND CARDIOMETABOLIC DISEASES EGID LABORATORIES – 2022-2023

UMR 1011

Rôle du récepteur nucléaire Rev-erb α dans l'angiogenèse

Tuteur : **B. Pourcet** – Université de Lille INSERM U1011 Institut Pasteur de Lille CHU Lille EGID – 01 rue du Pr Calmette – 0320877125 benoit.pourcet@univ-lille.fr

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des gros vaisseaux sanguins provoquée par l'accumulation de cholestérol et de leucocytes dans leur paroi. Au cours de l'athérogenèse, l'épaississement de la paroi vasculaire provoque une hypoxie locale et déclenche l'expansion de la *vasa vasorum* par angiogenèse. L'immaturité de ce nouveau réseau vasculaire acheminé vers la plaque provoque une fuite de lipides et de leucocytes dans l'intima vasculaire et contribue à leur accumulation. Les mécanismes moléculaires et cellulaires participant à la croissance du réseau sanguin périvasculaire ne sont pas connus. Réduire son expansion pourrait cependant représenter une stratégie thérapeutique innovante dans le traitement de ces maladies. Nos données préliminaires suggèrent que le récepteur nucléaire Rev-erb- α contrôlerait *in vivo* et *in vitro* l'angiogenèse et la néovascularisation intraplaque. Le sujet proposé a pour but de déterminer l'impact de Rev-erb- α dans l'angiogenèse en utilisant des approches *in vivo* et *in vitro*. Pour cela, l'angiogenèse sera évaluée *in vivo* par microscopie confocale et à feuille de lumière dans des souris Rev-erb α ^{-/-} et leur contrôle en analysant le développement du réseau vasculaire des rétines de nouveau-nés. Le rôle de Rev-erb α sur les processus angiogéniques sera alors analysé en utilisant les modèles 3D de compétition cellulaire en sphéroïdes. Les voies impliquées dans l'angiogenèse seront analysées dans les tissus et les cellules en culture par WES et RT-qPCR. Le sujet de M2R proposé a pour but de déterminer l'impact de Rev-erb- α dans l'angiogenèse au cours de l'athérosclérose et de définir les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués.

Le récepteur nucléaire Rev-Erb α et la protéine IQGAP2 dans l'intestin : un axe dans le contrôle de la dislipémie post-prandiale ?

Tuteur : **Olivier BRIAND** – INSERM U1011 – EGID

Laboratoire JK, Pôle recherche Faculté de médecine, boulevard du Pr Jules Leclercq 59 Lille

Tel : 03 20 97 42 11 – fax : 03 20 97 42 01 – olivier.briand@univ-lille.fr



Les récepteurs nucléaires sont des facteurs de transcription qui modulent l'expression de gènes-cibles en réponse à des ligands spécifiques. Parmi ceux-ci, **Rev-Erb α** est fortement exprimé dans l'organisme et participe à l'homéostasie énergétique coordonnant le métabolisme des lipides, des glucides et des acides biliaries à l'horloge biologique. L'augmentation de l'amplitude et de la durée de l'hypertriglycéridémie qui suit les repas ou, **dyslipémie post-prandiale**, constitue un facteur de risque cardiovasculaire du fait de son caractère pro-athérogène et inflammatoire. Chez le patient diabétique ou obèse, la **surproduction de chylomicrons par l'intestin** en est un contributeur majeur. Dans le cadre de nos travaux, nous avons mis en évidence le contrôle par Rev-Erb α d'étapes-clés du métabolisme des chylomicrons dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle (entérocytes). **IQGAP2, un acteur du métabolisme lipidique** dans le foie (Chiariello 2012), est le gène le plus fortement régulé par Rev-Erb α comme le révèle une analyse transcriptomique dans la lignée cellulaire Caco-2/TC7. L'utilisation de souris IQGAP2 ko et la mise sous silence de IQGAP2 *in vitro* ont permis de montrer que la déficience pour ce gène est associée à un défaut d'activation de l'autophagie en réponse à un challenge lipidique ainsi qu'à un stockage cellulaire exacerbé des lipides. Ces données laissent suggérer un rôle de IQGAP2 dans le contrôle exercé par Rev-Erb α dans l'entérocyte.

Le projet que nous proposons pour un M2 s'inscrit dans la recherche des mécanismes moléculaires par lesquels le récepteur nucléaire RevErb α et la protéine IQGAP2 contrôlent le turnover des lipides et l'autophagie dans les entérocytes. Nous envisageons ensuite, pour un projet de thèse, la caractérisation de ce processus dans un modèle de souris génétiquement altérées (RevErb α ko intestin-spécifique).

Les approches employées relèvent de techniques de **biologie cellulaire et moléculaire** (analyse d'expression génique et protéique, immunofluorescence indirecte et vidéo microscopie, demi-vie de protéines, invalidation et surexpression de gènes ...). Ce projet s'appuie sur un travail important de **culture cellulaire** (culture sur filtre de la lignée humaine entérocytaire Caco-2/TC7 et d'organoïdes intestinaux murins et humains).

Evaluation of pharmacological therapies for NASH in a new preclinical mouse model of NASH/NAFLD

Supervisor: Dr Fanny Lalloyer, Inserm UMR 1011 - Institut Pasteur of Lille - University of Lille

Tel : +33320877996

Mail: fanny.lalloyer@univ-lille.fr

NAFLD (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease) is the most common liver disease in the world, with a prevalence estimated at 25% of the general population, but reaching 80-90% in obese adults and 50-70% in patients with type 2 diabetes. This pathology has now become a veritable global "epidemic" whose incidence continues to increase, in parallel with the growing epidemic of obesity and diabetes. NAFLD is the hepatic expression of the metabolic syndrome and is characterized in its first stage by an excessive accumulation of fat in the liver, considered as benign steatosis, in the absence of excessive alcohol consumption. During the progression of NAFLD, simple steatosis can progress to NASH (Non-Alcoholic Steatohepatitis), diagnosed as a combination of steatosis, inflammation and ballooning of hepatocytes. In the worst cases, liver damage can progress to fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma, which can lead to the death of the patient. Currently, there is no approved therapeutic treatment for patients with NAFLD and NASH, the aggressive form of NAFLD.

In the laboratory, we developed a new mouse model which presents all stages of human NAFLD pathology (liver steatosis, inflammation, ballooning and fibrosis) under high fat diet for 12 weeks. The project aims to better understand NASH physiopathology and to test novel therapeutic targets for NASH in this model.



Histological, biochemical and molecular analyzes will be carried out on the various technical platforms of the laboratory.

Contrôle métabolique de la production d'IL-23 par les cellules dendritiques résidentes et migratrices.

Tuteur. David DOMBROWICZ, DR Inserm – david.dombrowicz@pasteur-lille.fr

Laboratoire : UMR 1011. Institut Pasteur de Lille. 1 rue du Pr Calmette. 59019 Lille. 0320877967

Contexte. Les cellules dendritiques (DC) sont clé pour l'initiation de la réponse immune adaptative. Elles capturent les antigènes dans les tissus périphériques et migrent dans les ganglions drainants (LN). Dans le psoriasis (PSO), les DC migratrices productrices d'IL-23 activent les lymphocytes T et la production d'IL-17 dans les LN. Le métabolisme contrôle des fonctions clé des DC et les acides gras exacerbent le PSO par leurs effets sur les DC mais les voies métaboliques gouvernant ces processus sont mal connues.

Objectif. Ce projet étudiera comment le métabolisme des DC et en particulier la voie des pentoses phosphates (PPP) affecte ces paramètres pour induire le psoriasis et la colite et contribuer à leur exacerbation dans les pathologies métaboliques.

Méthodes. Des modèles précliniques *in vivo* et *in vitro*, des inhibiteurs pharmacologiques et des modifications géniques seront utilisées pour étudier a) les besoins métaboliques des DC productrices d'IL-23 b) le remodelage métabolique durant l'exacerbation du psoriasis par un régime riche en graisses. L'étude sera focalisée sur deux enzymes qui contrôlent respectivement la glycolyse et le PPP : Pfkfb3 et G6PD. Des techniques d'analyse métabolique basées sur la cytométrie en flux (SCENITH) et des analyses transcriptomiques par scRNA-seq seront utilisées

Collaborations. Ce travail sera réalisé en collaboration avec le Dr Stoyan Invanov (LP2M, Nice).

Mots clé. DC, Psoriasis, Métabolisme, scRNA-seq, bioinformatique, tests fonctionnels

Rôle de FAT10/UBD dans la formation des corps de Mallory dans les hépatocytes au cours du développement de la NASH

Pr. Réjane Paumelle-Lestrelin. UMR1011 « récepteurs nucléaires, maladies métaboliques et cardiovasculaires. rejane.lestrelin@univ-lille.fr

Les maladies du foie gras non-alcooliques (NAFLD) touchent un tiers de la population générale. Les NAFLD sont caractérisées par une accumulation intrahépatique de lipides (stéatose) évoluant vers la stéatohépatite non alcoolique (NASH) pouvant mener au développement d'une cirrhose et d'un carcinome hépatocellulaire (CHC). A ce jour, aucun traitement médical efficace contre la NASH n'est disponible, hormis le changement du mode de vie ou la chirurgie bariatrique. Parmi les différents mécanismes participant au développement et à la progression de la NASH, la perturbation des voies de dégradation conduisant à la formation des corps de Mallory (MDB) semblerait être un médiateur potentiel de progression de la NASH vers une cirrhose et un CHC. Cependant les mécanismes conduisant à la formation des MDB au cours de la NASH ne sont pas encore connus. Nos analyses transcriptomiques de biopsies de foies issues de 2 cohortes indépendantes de patients obèses atteints de NASH montrent que l'expression de FAT10/UBD est corrélée positivement avec les différents grades histologiques de NAFLD. FAT10 est une protéine de la famille des « ubiquitin-like » impliquée dans les processus de FATylation régulant la dégradation protéique. De manière intéressante, il a été montré que FAT10 est impliquée dans la formation des MDB induits par un agent chimique, le DCC, chez la souris. Le projet de Master 2 vise donc

à déterminer le rôle de FAT10 dans la formation des MDB au cours du développement de la NASH, *in vitro*, dans des modèles d'hépatocytes humains et *in vivo*, dans un modèle de souris développant une NASH.

Etude de l'interaction FAT10/PPAR α au cours du développement de la NASH

Tuteur : Audrey HELLEBOID. UMR1011 - Récepteurs nucléaires, maladies métaboliques et cardiovasculaires. audrey.helleboid@univ-lille.fr

La prévalence des maladies du foie gras non-alcooliques (NAFLD) est en forte augmentation. Les NAFLD sont initiées par une stéatose évoluant vers la stéatohépatite non-alcoolique (NASH) caractérisée par une inflammation, une ballonnisation des hépatocytes, et parfois une fibrose qui peut évoluer vers des stades plus graves allant de la cirrhose au carcinome hépatocellulaire. Aucun traitement pharmacologique n'est pour le moment disponible. Le laboratoire a montré que l'activation de PPAR α , un récepteur nucléaire fortement exprimé dans le foie, connu pour ses effets anti-inflammatoire, anti-fibrotique et pour favoriser le métabolisme des lipides, est une stratégie thérapeutique prometteuse. Cependant, l'expression génique de PPAR α ainsi que son activité sont diminuées dans les foies des patients atteints de NASH expliquant en partie l'inefficacité des agonistes de PPAR α dans les études cliniques traitant la NASH. Il est donc crucial de mieux comprendre les mécanismes à l'origine de cette modulation de PPAR α lors de la progression de la NASH. L'analyse transcriptomique de biopsies hépatiques de patients obèses a montré que l'expression du gène FAT10 (UBD), une protéine ubiquitine-like, augmente au cours de la progression de la NASH, et est inversement corrélée avec l'expression de PPAR α . FAT10 est connue pour être responsable de la FATylation contrôlant la stabilité/dégradation et l'activité de diverses protéines. Ainsi FAT10 pourrait interagir avec PPAR α pour moduler son activité au cours de la NASH. Nos résultats préliminaires montrent que FAT10 interagit avec PPAR α dans les hépatocytes au cours de la progression de la NASH *in vivo* dans des biopsies de foies NASH murines et humaines et *in vitro* dans des cellules HepG2 et qu'il contribue à inhiber l'activité de PPAR α par son agoniste, le Pemafibrate *in vitro* et *in vivo*. FAT10 pourrait donc favoriser la progression de la NASH en induisant la dégradation et/ou la dé-activation de PPAR α , rendant toute stratégie thérapeutique ciblant PPAR α peu efficace. Le projet de Master 2 vise donc d'étudier l'interaction FAT10/PPAR α au cours du développement de la NASH *in vitro* et *in vivo* afin de contribuer à l'identification d'une nouvelle piste thérapeutique.

The role of the mitochondrial protein CHCHD4 in endothelial cell function

Tutor: Anna Rita Cantelmo, PhD, HDR

U1011 - Récepteurs Nucléaires, Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires, Institut Pasteur de Lille - 1 Rue du Professeur Calmette - Lille Cedex - Tel: 03 20 33 70 78

email: anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr

Mitochondria exert central functions in bioenergetics, metabolism, and apoptosis. The correct function of these organelles requires the import of > 1000 nucleus-encoded proteins as the mitochondrial genome provides only 13 proteins. A key component of the mitochondrial protein import machinery is the evolutionarily conserved AIF/CHCHD4 oxidoreductase that catalyzes the oxidative folding of targeted proteins after they cross the outer mitochondrial membrane. This mechanism is finely tuned and it is affected in disease.

Using a multidisciplinary approach, combining molecular and cellular biology, this project aims at i) studying the role and functional relevance of AIF/CHCHD4 in endothelial cells, and ii) characterizing the signaling pathways that impact on AIF/CHCHD4-dependent import pathway in angiogenesis in disease. The



working hypothesis is that aberrant activity of this import pathway drives pathological angiogenesis. We will investigate angiogenic responses in healthy endothelial cells overexpressing CHCHD4 mimicking pathological endothelial cells.

The results generated with this project promise to provide unprecedented insights that will be useful for the development of novel therapeutic strategies for a variety of human diseases characterized by dysfunctional vasculature, such as cardiovascular disorders.