

MASTER BIOLOGIE-SANTE – SUJETS PROPOSES PAR UMR 1011 PARCOURS DIABETE ET MALADIES CARDIO-VASCULAIRES

Rôle des sites de contact RE-mitochondrie dans la sécrétion de GLP-1 par les cellules L dans le modèle d'organoïdes intestinaux humains

Encadrement : **Sophie LESTAVEL**

UMR 1011 INSERM (Dir. Bart STAELS) - Laboratoire J&K, Pôle Recherche Faculté de Médecine, Boulevard du Pr Jules Leclercq 59000 Lille

Email : sophie.lestavel@univ-lille.fr

Le diabète de type 2 lié à la dérégulation du métabolisme du glucose est une urgence sanitaire mondiale. À long terme, il peut entraîner des complications cardio-métaboliques.

L'intestin possède un rôle endocrine majeur en sécrétant des hormones dont l'incrétine **GLP-1** (Glucagon-Like Peptide 1) qui assure l'équilibre glycémique en potentialisant la sécrétion, par la cellule β pancréatique, d'insuline en réponse au glucose (Lu *et al.*, 2021). Les sites de contact entre le réticulum endoplasmique et les mitochondries (**MAM : Mitochondria-Associated Membranes**) et leur dynamique sont essentiels pour assurer la sensibilité à l'insuline du foie et du muscle et la sécrétion d'insuline par le pancréas (Rieusset, 2018). Des résultats préliminaires *in vitro* sur une lignée de cellules L de souris montrent que les MAMs seraient aussi impliquées dans la sécrétion de GLP-1.

L'objectif du stage de M2 est d'étudier le rôle des MAMs dans la sécrétion de GLP-1 par les cellules L de l'intestin grâce au modèle *ex vivo* original et complexe d'organoïdes intestinaux humains. Les organoïdes seront exposés à différents sécrétagogues du GLP-1 (glucose, acides biliaires, acides gras, acides aminés...). Le GLP-1 sera dosé par ELISA dans le surnageant et les MAMs seront quantifiées par PLA (Proximity Ligation Assay) spécifiquement dans les cellules L grâce à l'immunolocalisation du GLP-1. Ces techniques sont maîtrisées au laboratoire. Après la mise au point de la transfection des organoïdes par des adénovirus, les MAMs seront inhibées par une protéine, le spacer FATE1, afin de confirmer le rôle des MAMs dans la sécrétion de GLP-1 par l'épithélium intestinal humain.

Ces résultats devraient contribuer à placer les MAMs comme de potentielles cibles thérapeutiques dans le diabète de type 2 pour restaurer la sensibilité à l'insuline et augmenter sa sécrétion.

RevErb α dans l'intestin comme cible pour le contrôle des complications liées aux troubles métaboliques

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 biliaires à l'horloge biologique.



L'intestin joue un rôle unique dans la défense métabolique en régulant l'absorption des lipides alimentaires et en contribuant également à l'homéostasie du glucose. Comme organe endocrine, il sécrète de grandes quantités d'hormones et de peptides bioactifs qui régulent différents processus métaboliques tels que l'homéostasie énergétique, la motilité intestinale et l'immunité locale et sa fonction de barrière vis-à-vis du microbiote. D'importantes anomalies des fonctions intestinales favorisent le diabète de type 2 et l'obésité, conduisant à l'athérosclérose et à la stéatohépatite.

Le projet que nous proposons pour un M2 s'inscrit dans la recherche des mécanismes moléculaires par lesquels le récepteur nucléaire RevErb α exprimé dans les cellules de l'intestin, contrôle certaines fonctions spécifiques de l'intestin telles que l'absorption des lipides alimentaires, la fonction barrière ou la réponse entéroendocrine. Il repose sur d'importants résultats préliminaires dans le modèle entérocytaire humain Caco-2/TC7 et dans les organoïdes intestinaux murins, montrant une perturbation du métabolisme des lipides alimentaires en l'absence de RevErb α .

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 ...) et l'utilisation d'approches omics. Ce projet s'appuie sur un travail de **culture cellulaire** (culture sur filtre de la lignée humaine entérocytaire Caco-2/TC7 et d'organoïdes intestinaux murins et humains) et sur l'emploi de modèles animaux.

Rôle de « l'ubiquitin-like protein » FAT10 dans le développement de l'insulino-résistance hépatique au cours de la MASH

Encadrement : Pr Réjane Paumelle-Lestrelin.

rejane.lestrelin@univ-lille.fr

Tel : 03 20 97 42 09

INSERM- UMR1011 « Nuclear receptor, metabolic and cardiovascular diseases”

Laboratoire J&K-Faculté de médecine pôle recherche-Bd Pr Jules Leclerc-Lille

La stéatopathie métabolique (MASLD) est aujourd'hui considérée comme la composante hépatique du syndrome métabolique et est associée au développement de l'insulino-résistance (IR). Cette IR est définie comme la diminution de la réponse cellulaire et tissulaire à l'insuline et se développe à la suite d'une accumulation de triglycérides hépatiques (stéatose) et d'un stress inflammatoire chronique, caractéristiques de la stéatohépatite métabolique (MASH), à haut risque de progression rapide vers la cirrhose. Bien qu'il existe des liens évidents, les mécanismes contribuant au développement de la MASH et de l'IR hépatique restent complexes et encore peu connus. De manière intéressante, l'analyse transcriptomique de biopsies hépatiques de patients obèses développant différents grades de MASLD a montré que l'expression de FAT10/UBD était positivement corrélée avec la sévérité de la MASH. La modulation d'expression de FAT10 dans les hépatocytes humains et murins diminue l'accumulation de gouttelettes lipidiques au cours de la MASLD, et il a été montré que la déficience de FAT10 chez la souris âgée favorise la sensibilité à l'insuline, suggérant que FAT10 pourrait contribuer au développement de l'IR hépatique. Cependant, aucune étude n'a à ce jour démontré un rôle direct de FAT10 dans la régulation de la voie de signalisation à l'insuline et le développement de l'IR hépatique au cours de la MASH. Dans le but de mieux comprendre le rôle de FAT10 dans le développement de l'IR au cours de la MASH, nous proposons dans le cadre du Master 2, 1) d'étudier le rôle de FAT10 et son mécanisme d'action dans la réponse des hépatocytes à l'insuline et l'IR dans

un contexte de MASH *in vitro*, 2) de déterminer le rôle de FAT10 dans les hépatocytes dans l'IR induite dans un contexte de MASH *in vivo* chez la souris.

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

Encadrement : Dr. 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.

Evaluation of pharmacological therapies for MASH in a new preclinical mouse model of MASLD

Supervisor: Dr Fanny Lalloyer, UMR1011 (Institut Pasteur of Lille – EGID - University of Lille)

Tel : +33320877996

Mail: fanny.lalloyer@univ-lille.fr

MASLD (metabolic dysfunction-associated steatotic 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. MASLD 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 MASLD, simple steatosis can progress to MASH (Metabolic dysfunction-associated 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 MASH, the aggressive form of NAFLD.

In the laboratory, we developed a new mouse model which presents all stages of human MASLD pathology (liver steatosis, inflammation, ballooning and fibrosis) under high fat diet for 12 weeks. The project aims to better understand MASH physiopathology and to test novel therapeutic targets for MASH in this model. Histological, biochemical and molecular analyzes will be carried out on the various technical platforms of the laboratory.

Caractérisation des hématomes dans un modèle ex vivo innovant, vers une optimisation de la prise en charge des patients présentant une hémorragie intra-cérébrale

Tuteur : Annabelle Dupont, équipe 2, UMR Inserm 1011, annabelle.dupont@univ-lille.fr, tél 03.20.44.48.45

Les hémorragies intra-cérébrales (HIC) représentent 10 à 20 % des accidents vasculaires cérébraux et touchent chaque année dans le monde 3,5 millions de personnes. Seulement 50% des malades survivent et la moitié d'entre eux présentent un handicap important. Ce mauvais pronostic s'explique par l'absence de traitement efficace de l'HIC. Une des perspectives d'amélioration du pronostic est de favoriser l'évacuation de l'hématome avec un agent fibrinolytique. Actuellement cette approche est peu efficace et contre indiquée chez les patients à risque hémorragique élevé. Pour optimiser cette approche et la proposer à un plus grand nombre de patients, il est nécessaire de mieux connaître les caractéristiques de cet hématome. L'objectif de ce projet est de caractériser cet hématome à l'aide d'un modèle ex vivo innovant développé au laboratoire. L'hématome sera préparé avec du sang de sujets sains et de patients à haut risque d'HIC (patients sous traitements anticoagulants ou présentant une maladie hémorragique). L'effet des antidotes et des concentrés de facteurs de la coagulation utilisés en cas d'HIC sera également étudié. Les hématomes seront caractérisés par plusieurs approches : étude de la cinétique de formation, de sa rétraction spontanée dans le temps et de sa composition par immunomarquage (hématies, plaquettes, leucocytes, fibrine, ..) associée à une approche par imagerie 3D par fluorescence. La perméabilité des hématomes et les caractéristiques du réseau de fibrine seront évaluées par microscopie électronique à balayage couplée à de l'analyse d'images. Les résultats obtenus seront comparés entre les différents groupes de patients et les témoins. La réalisation de ce projet apportera des informations importantes qui permettront à terme de proposer des stratégies fibrinolytiques adaptées à chaque patient. Ce projet s'inscrit dans le projet TIPITCH qui vise à transformer radicalement le pronostic des patients présentant une HIC (https://medecine.univ-lille.fr/fileufr3s/user_upload/ufr3s-actualites/2023/recherche/2023-11-28-rhu-laureat-lillois-projet-tipitch-v4.pdf).

Interactions endothélium – cellules immunes dans la stéatohépatite associée au métabolisme.

Tuteur. Anna-Rita CANTELMO – anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr

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. La stéatohépatite associée au métabolisme (MASH) est une pathologie pouvant évoluer en cirrhose puis vers l'hépatocarcinome. En l'absence de traitement pharmacologique, c'est la première cause de transplantation hépatique aux USA. La présence d'infiltrats inflammatoires est une



des caractéristiques du MASH et joue un rôle essentiel dans la progression de la maladie. Le recrutement hépatique de cellules immunes par diapédèse dépend directement des interactions entre cellules immunes et l'endothélium vasculaire qui, dans ce contexte, acquièrent un phénotype pro-inflammatoire. Cependant, le mécanisme précis de ces interactions est encore non entièrement connu.

Objectif. Ce projet examinera la contribution potentielle des interactions cellules immunes – endothélium au développement du MASH dans le but ultime de moduler ces interactions à des fins thérapeutiques.

Méthodes. Les interactions entre endothélium et cellules immunes seront étudiées *in vitro*. Les cellules endothéliales hépatiques et les cellules immunes sanguines seront isolées de souris développant du stéatohépatite non alcoolique (NASH), suite à une alimentation enrichie en graisses, cholestérol et carbohydrates, et de souris contrôle. Les altérations phénotypiques de l'endothélium et des cellules immunes seront analysées par scRNAseq et validées par des expériences *in vitro* d'activation des cellules endothéliales- et des cellules immunes, par la mesure de perméabilité et de passage transendothélial.

Mots clé. MASH, Endothélium, Cellules immunes, Métabolisme, Inflammation.

Contrôle de l'état de différenciation hépatocytaire par l'ubiquitine D dans les foies lésés

Encadrement : Jérôme Eeckhoute – INSERM U1011 Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète Faculté de Médecine de Lille – Pôle Recherche Boulevard du Professeur Leclerc, Bâtiment J&K 59045 Lille cedex – Tel :03.20.97.42.19 - jerome.eeckhoute@inserm.fr

<https://u1011.pasteur-lille.fr/lunite/theme-4-analyse-transcriptionnelle-integree-des-maladies-hepatiques/>

Le foie est caractérisé par son potentiel de régénération qui lui permet de faire face à diverses agressions et de reconstituer la masse d'hépatocytes fonctionnels. Cependant, des maladies aiguës ou chroniques peuvent favoriser un dysfonctionnement hépatique sous-tendu par une altération du potentiel de régénération et de la fonction des hépatocytes. Des altérations du transcriptome hépatocytaire impliquant une dédifférenciation partielle sont impliquées dans ce processus. Dans ce contexte, nous cherchons à définir le rôle de l'Ubiquitine D (UBD également connue sous le nom de FAT10). FAT10 est un membre de la famille des protéines eucaryotes de type ubiquitine, faiblement exprimée dans le foie normal mais augmentée par les signaux inflammatoires en cas de lésion. FAT10 contient deux domaines UBL permettant une interaction covalente (FATylation) via des ligases (USE1 et UBA6), ou une interaction non covalente, conduisant ses substrats à une dégradation protéasomale ou lysosomale. Notre laboratoire a déjà développé un panel d'outils pour évaluer comment FAT10 contrôle le programme transcriptionnel des hépatocytes (par exemple, une lignée cellulaire stable avec la surexpression de FAT10).

Nous proposons un stage de Master 2 dont l'objectif sera de réaliser des essais *in vitro* en utilisant nos lignées cellulaires déjà établies pour définir comment la surexpression ou l'extinction de FAT10 a un impact sur l'expression/activité des facteurs de transcription hépatocytaires. Des approches de biologie cellulaire et moléculaire pour définir l'expression des gènes, les niveaux de protéines et la localisation subcellulaire seront mises en œuvre.



Role of the mitochondrial protein import machinery in angiogenesis in health and disease

Tutor: Anna Rita Cantelmo, PhD

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 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 techniques, this project aims at i) studying the role and functional relevance of CHCHD4 in endothelial cells, and ii) characterizing the signaling pathways that impact on the CHCHD4-dependent import pathway in angiogenesis in disease. The working hypothesis is that aberrant activity of this import pathway drives pathological angiogenesis.

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 and cancer.