



MASTER RECHERCHE BIOLOGIE - SANTE de LILLE

Projets de Recherche 2024-2025

Sujets	Tuteurs - Unités de recherche	
Parcours Neurosciences		
Alpha-synucléine et Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4 dans la mort neuronale ferroptotique dans des modèles et des patients parkinsoniens: recherche translationnelle de cibles thérapeutiques et de biomarqueurs	David DEVOS, Jean-Christophe DEVEDJIAN, Anne-Sophie ROLLAND. Équipe de recherche INSERM 1172 DVCD. david.devos@chu-lille.fr	13
Troubles cognitifs induits par un régime gras : atteinte de la plasticité synaptique ?	Michèle BASTIDE et Olivier PÉTRAULT, INSERM UMR-S1172, Troubles Cognitifs Dégénératifs et Vasculaires. michele.bastide@univ-lille.fr - olivier.petrault@univ-lille.fr	13
Étude des effets de la L-Dopa dans la maladie de Parkinson	Nacim BETROUNI, Charlotte LALOUX. INSERM U 1172, Service de Neurophysiologie Clinique , Hôpital Roger Salengro, CHRU de Lille – sophie.hennion@chru-lille.fr - nacim.betrouni@inserm.fr	14
Maternal behavior Programming on the interplay of Oxytocin, Sialylation, and Inflammation and its regulation by the probiotic Lactobacillus	S. MORLEY-FLETCHER. Team GlycoStress - UMR 8576 CNRS «Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle», Bât C9 Université de Lille – Villeneuve d’Ascq. sara.morley-fletcher@univ-lille.fr	14
SKYNET: SKYing histones from fibrin NETwork in intracerebral haemorrhage	Vincent BEREZOWSKI, INSERM UMR-S1172 – Lille Neuroscience & Cognition, Équipe Troubles Cognitifs Dégénératifs & Vasculaires. vincent.berezowski@univ-lille.fr	15
Modélisation in vitro des interactions neurones-astrocytes dans le contexte de la maladie d’Alzheimer	Sophie HALLIEZ, Alzheimer & Tauopathies, UMR-S 1172, LiNCog, Lille. - sophie.halliez@inserm.fr	15
Impact de la dynamique phosphorylation/O-GlcNAcylation sur l’interaction entre l’ α B-crystalline et les filaments intermédiaires de desmine dans des cellules musculaires squelettiques soumises à un stress protéotoxique.	Caroline CIENIEWSKI-BERNARD - Tony LEFEBVRE. URePSSS-ULR 7369 - UGSF-UMR 8576 - Université de Lille - caroline.cieniewski-bernard@univ-lille.fr / tony.lefebvre@univ-lille.fr	16
Caractérisation fonctionnelle des variants d’expression du gène PLCG2 associés au risque de maladie d’Alzheimer.	Julie DUMONT, INSERM UMR 1167, julie.dumont@univ-lille.fr	16

Contrôle hormonal de l'oligodendrogenèse gestationnelle	Ariane SHARIF. UMR-S1172, Lille Neuroscience & Cognition. Lab Développement et Plasticité du Cerveau Neuroendocrine. Bât Biserte, place de Verdun. ariane.sharif@inserm.fr	17
Impact d'un régime alimentaire riche en graisse sur une matrice extracellulaire à l'interface sang/cerveau	Virginie MATTOT. Inserm U1172, Lille Neuroscience & Cognition. Groupe Development and plasticity of the neuroendocrine brain – virginie.mattot@inserm.fr	17
Etudes de déterminants génétiques de la maladie de Parkinson	Marie-Christine CHARTIER-HARLIN, Univ Lille, Inserm, CHU-Lille, LiNCog, UMR-S1172, place de Verdun, Lille - Marie-Chistine.Chartier-Harlin@inserm.fr	18
Etude de perturbations du trafic cellulaire dans la maladie de Parkinson.	Marie-Christine CHARTIER-HARLIN, Univ Lille, Inserm, CHU-Lille, LiNCog, UMR-S1172, place de Verdun, Lille - Marie-Chistine.Chartier-Harlin@inserm.fr	18
Development of new types of analgesics	Priscille BRODIN. Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR 8204 - CIIL - priscille.brodin@inserm.fr	19
Etude de l'organisation des gènes des Opsines des photorécepteurs cônes chez les patients atteints d'anomalies de la vision des couleurs.	Claire-Marie DHAENENS/Vasily SMIRNOV, LiNCog, Inserm UMR-S1172, Eq.1 - claire-marie.dhaenens@inserm.fr	19
Caractérisation des hématomes dans un modèle ex vivo innovant, vers une optimisation de la prise en charge des patients présentant une hémorragie intra-cérébrale	Annabelle DUPONT, team 2, UMR Inserm 1011 - annabelle.dupont@univ-lille.fr	20
Deciphering the synapto-protective effect of the Alzheimer's genetic risk factor Pyk2	Devrim KILINC - Inserm U1167 - Team: Molecular Determinants of Alzheimer's Disease and Related Disorders - devrim.kilinc@pasteur-lille.fr	20
Parcours Diabète et Maladies cardiovasculaires		
The molecular clock in liver fibrosis	Philippe LEFEBVRE, Univ. Lille, UMR Inserm 1011 philippe-claude.lefebvre@inserm.fr	22
Rôle des sites de contact RE-mitochondrie dans la sécrétion de GLP-1 par les cellules L dans le modèle d'organoïdes intestinaux humains	Sophie LESTAVEL, Laboratoire J&K, UMR 1011 INSERM Pôle Recherche, Faculté de Médecine, Lille. sophie.lestavel@univ-lille.fr	22

SKYNET: SKYing histones from fibrin NETwork in intracerebral haemorrhage	Vincent BEREZOWSKI, INSERM UMR-S1172 – Lille Neuroscience & Cognition, Équipe Troubles Cognitifs Dégénératifs & Vasculaires. vincent.berezowski@univ-lille.fr	23
Rôle du RAGE (receptor for advanced glycation end products) et du complément dans le vieillissement vasculaire rénal	Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr	23
Évaluation des conséquences rénales à long terme d'un sepsis sévère dans un modèle murin	Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL, laboratoire : U1167 RID-AGE, équipe 5 - marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr	24
Interactions endothélium - cellules immunes dans la stéatohépatite associée au métabolisme.	Anna-Rita CANTELMO et David DOMBROWICZ. UMR 1011. Institut Pasteur de Lille, rue du Pr Calmette. anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr ; david.dombrowicz@pasteur-lille.fr	24
Role of the mitochondrial protein import machinery in angiogenesis in health and disease	Anna Rita CANTELMO. U1011 - Récepteurs Nucléaires, Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires, Institut Pasteur de Lille, Rue du Professeur Calmette. anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr	25
Etude de l'interaction FAT10/PPAR α au cours du développement de la NASH	Audrey HELLEBOID. UMR 1011 « Récepteurs nucléaires, Maladies métaboliques et cardiovasculaires. audrey.helleboid@univ-lille.fr	25
Rôle de « l'ubiquitin-like protein » FAT10 dans le développement de l'insulino-résistance hépatique au cours de la MASH	Réjane PAUMELLE-LESTRELIN. INSERM- UMR1011 « Nuclear receptor, metabolic and cardiovascular diseases” Laboratoire J&K-Faculté de médecine pôle recherche - rejane.lestrelin@univ-lille.fr	26
Evaluation of pharmacological therapies for MASH in a new preclinical mouse model of MASLD	Fanny LALLOYER, UMR1011 (Institut Pasteur of Lille – EGID - University of Lille) - fanny.lalloyer@univ-lille.fr	26
Caractérisation de la O-GlcNAcylation dans les érythrocytes et le plasma de patients avec un diabète de type 1 – Lien avec l'équilibre glycémique et l'exercice	Elsa HEYMAN, Caroline CIENIEWSKI-BERNARD. URePSSS – ULR 7369, équipe Activité Physique, Muscle, Santé, Université de Lille. elsa.heyman@univ-lille ; caroline.cieniewski-bernard@univ-lille.fr	27
Contrôle de l'état de différenciation hépatocytaire par l'ubiquitine D dans les foies lésés	Jérôme EECKHOUTE – INSERM U1011 Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Bâtiment J&K, Lille – jerome.eeckhoute@inserm.fr	27
Caractérisation des hématomes dans un modèle ex vivo innovant, vers une optimisation de la prise en charge des patients présentant une hémorragie intra-cérébrale	Annabelle DUPONT, team 2, UMR Inserm 1011 - annabelle.dupont@univ-lille.fr	28

Rôle du régulateur E2f1 dans les cellules immunitaires au cours de l'obésité et du diabète de type 2	Jean-Sébastien ANNICOTTE – INSERM UMR 1167 RID-AGE – Faculté de Médecine - Pôle Recherche - place de Verdun- Lille – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr	28
Etude de la reprogrammation épitranscriptomique des cellules β pancréatiques par une approche d'inactivation génique ou d'inhibition pharmacologique.	Jean-Sébastien ANNICOTTE – INSERM UMR 1167 RID-AGE – Faculté de Médecine - Pôle Recherche - place de Verdun- Lille – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr	29
Evaluation des dysfonctions cardiaques induites par le diabète de type 2 dans un modèle de cardiomyocytes humains dérivé de cellules souches humaines pluripotentes induites.	Florence PINET – INSERM UMR 1167 RID-AGE – Institut Pasteur de Lille - rue du Professeur Calmette - florence.pinet@pasteur-lille.fr	29
RevErb α dans l'intestin comme cible pour le contrôle des complications liées aux troubles métaboliques	Olivier BRIAND – INSERM U1011 – EGID - Laboratoire JK, Pôle recherche, Faculté de médecine, bd du Pr Leclercq, Lille - olivier.briand@univ-lille.fr	30
Rôle du récepteur nucléaire ROR alpha dans l'adipocyte et l'homéostasie métabolique	Delphine EBERLE – UMR1011 – Institut Pasteur de Lille, rue Calmette, Lille – delphine.eberle@univ-lille.fr	30
Impact of glucocorticoids on islet function: role of SRD5A1 as a modulator of glucocorticoids bioavailability	Stéphanie ESPIARD - Translational Research Laboratory for Diabetes, INSERM UMR1190, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - stephanie.espiard@univ-lille.fr	31
Parcours Oncologie fondamentale et clinique		
Étude du métabolisme et de la résistance des leucémies myéloïdes à localisation extramédullaire : modélisation par utilisation de la bioimpression	Nicolas GERMAIN, ONCOLILLE Laboratoire Canther UMR 9020 CNRS-UMR1277, INSERM, équipe Leukemia. nicolas.germain@chu-lille.fr	33
Implication de la voie HBP et des processus de O-GlcNAcylation dans la fibrose associée au cancer pulmonaire.	Vanessa DEHENNAUT, CANTHER, UMR 9020-U1277, Institut ONCOLille, Lille - vanessa.dehennaut@univ-lille.fr	33
Caractérisation de l'impact de la mutation H3.3K27M sur la radiosensibilité des cellules des GITC	Samuel MEIGNAN, UMR-CANTHER, Equipe plasticité, s-meignan@o-lambret.fr	34
Rôle de la O-GlcNAcylation dans la réponse du cancer colorectal à la chimiothérapie FOLFOX	Ikram EL YAZIDI – Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR CNRS 8576, Université de Lille, Cité scientifique, Villeneuve d'Ascq – ikram.el-yazidi@univ-lille.fr	34

Intérêt du ciblage thérapeutique de la mucine MUC4 dans les cancers épithéliaux en tant que plate-forme d'interaction avec les récepteurs à tyrosine kinase. Caractérisation des interactions dans l'adénocarcinome pancréatique.	Isabelle VAN SEUNINGEN – Laboratoire CANTHER/UMR 9020 CNRS-U1277 Inserm-CHU Lille-Université de Lille/Equipe « Mucines, cancer et résistance aux drogues », Boulevard du Professeur Jules Leclercq, ONCOLille - isabelle.vanseuningen@inserm.fr	35
Développement d'approches thérapeutiques de maladies génétiques causées par des mutations non-sens	Fabrice LEJEUNE – U1277 Inserm / UMR 9020 CNRS – Oncolille fabrice.lejeune@inserm.fr	35
Implication du complexe WASH dans l'adressage des formes activées du récepteur MET dans le cancer du poumon	David TULASNE - OncoLille, UMR 9020 CNRS, U1277 Inserm, Université de Lille. Team Efficacy & Resistance to anti-tumor targeted Therapies - david.tulasne@inserm.fr	36
Etude des mécanismes d'action d'un nouveau composé organométallique sur la prolifération cellulaire.	Alain MARTORIATI, UGSF-UMR 8576, équipe Régulation du développement précoce, Cité scientifique, Bat SN3, Villeneuve d'Ascq. alain.martoriati@univ-lille.fr	36
Rôles de la protéine canal ORAI3 dans la progression tumorale prostatique.	Fabien VANDEN ABEELE - Laboratoire de Physiologie Cellulaire (PHYCEL INSERM U-1003) : canaux ioniques, inflammation et cancer. fabien.vanden-abeele@inserm.fr	37
Role of the mitochondrial protein import machinery in angiogenesis in health and disease	Anna Rita CANTELMO. U1011 - Récepteurs Nucléaires, Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires, Institut Pasteur de Lille, Rue du Professeur Calmette. anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr	37
Influence de l'enzyme lysophosphatidylcholine acyltransférase 2 sur la résistance à la chimiothérapie induite par une toxine bactérienne.	Nilmara DE OLIVEIRA ALVES BRITO - PhyCell U1003 Equipe 2 - Bâtiment ONCOLille. nilmara.de-oliveira-alves-brito@inserm.fr	38
Testing in Microfluidics (colon-on-a-chip) the impact of bacteria-host interactions on the human intestinal regulatory T cell pathogenicity	Franck HOUSSEAU, Visiting Professor - PhyCell U1003 Team 2 – ONCOLille Building - fhousse1@jhmi.edu	38
Study of inflammasome-dependent mechanisms in chemotherapy-induced neuropathies.	Lionel POULIN - PhyCell U1003 Equipe 2 - Bâtiment ONCOLille - lionel.poulin@cncs.fr	39
Evaluation d'une nouvelle cible thérapeutique potentielle dans la Leucémie Aigüe Myéloïde.	Marie-Hélène DAVID-CORDONNIER. INSERM UMR-S1277 – CNRS UMR 9020 CANTHER, Equipe Facteurs de Persistance des Cellules Leucémiques – IRCL, Place de Verdun - marie-helene.david@inserm.fr	39

Characterization of a tandem duplication involved in a constitutional epimutation of the MLH1 gene using long-read sequencing and induced pluripotent stem cells	Julie LECLERC - Laboratoire CANTHER, UMR9020 CNRS – U1277 Inserm – Université de Lille – CHU de Lille - julie.leclerc@inserm.fr julie.leclerc@chu-lille.fr	40
Capturer l'action en direct: étude dynamique des interactions moléculaires MET-gangliosides par microscopie dynamique en molécules uniques.	Sophie GROUX-DEGROOTE. UGSF, UMR CNRS 8576, Université de Lille, Bât C9 - sophie.groux-degroote@univ-lille.fr	40
Validation fonctionnelle de master régulateurs impliqués dans la formation de métastases cérébrales	Xuefen LE BOURHIS, Institut OncoLille, Laboratoire CANTHER, UMR 9020 CNRS - U1277 Inserm, Equipe « Plasticité Cellulaire et Cancer ». xuefen.le-bourhis@univ-lille.fr	41
Characterization of calcium pathways involving TRPM2 channel in therapy resistance of breast cancer cells	Dimitra GKIKA - CANTHER - UMR 9020 CNRS – UMR 1277 Inserm, Équipe « Plasticité cellulaire et Cancer » - dimitra.gkika(@)univ-lille.fr	41
Parcours Immunité, Inflammation et Infection		
Compétition bactérienne dans le tractus pulmonaire mucoviscidose	Rodrigue DESSEIN, Inserm U1019, CNRS UMR 9017, Université de Lille, CHU, CIIL - Team Opportunist Infection, Immunity, Environment & Lung Disease. Rodrigue.DESSEIN@chu-lille.fr	43
Infection néonatale à Streptococcus agalactiae et barrière muco-intestinale	Catherine ROBBE MASSELOT – Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle – 50 avenue de Halley – catherine.robbe-masselot@univ-lille.fr	43
Understanding the mechanisms governing virulence of the tachyzoite proliferative form of Toxoplasma gondii	Mathieu GISSOT. Centre d'Infection et d'Immunité de Lille. Institut Pasteur de Lille. mathieu.gissot@pasteur-lille.fr	44
Rôle du RAGE (receptor for advanced glycation end products) et du complément dans le vieillissement vasculaire rénal	Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr	44
Rôle de l'altération du glycocalyx par l'hème et du système du complément dans les lésions endothéliales du syndrome hémolytique et urémique atypique	Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr	45
Évaluation des conséquences rénales à long terme d'un sepsis sévère dans un modèle murin	Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL, laboratoire : U1167 RID-AGE, équipe 5 - marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr	45

Interactions endothélium - cellules immunes dans la stéatohépatite associée au métabolisme.	Anna-Rita CANTELMO et David DOMBROWICZ. UMR 1011. Institut Pasteur de Lille, rue du Pr Calmette. anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr ; david.dombrowicz@pasteur-lille.fr	46
Étude des interactions cellulaires de l'éosinophile dans la dermatite atopique.	Delphine STAUMONT-SALLÉ, Stéphane ESNAULT. University of Lille, INSERM, CHU Lille, U1286 - INFINITE - delphine.salle@chu-lille.fr ; stephane.esnault@univ-lille.fr	46
Rôle des régimes hyper-glucidiques dans la réponse anti-infectieuse des cellules myéloïdes	Pukar KC - PhyCell U1003 Equipe 2 - Bâtiment ONCOLille. pukar.kc@inserm.fr	47
Impact de l'exposition de souris gestantes aux particules atmosphériques ultrafines sur l'immunité Intestinale et pulmonaire de la descendance dans un modèle d'asthme	Cécile VIGNAL / Patricia de NADAI. U1286, INFINITE, Faculté de Médecine, Pôle Recherche. cecile.vignal2@univ-lille.fr / U1019, Centre d'Infection et d'immunité de Lille, Institut Pasteur de Lille. patricia.de-nadai@pasteur-lille.fr	47
Rôle des motifs de trafic intracellulaire de la protéine spike du SARS-CoV-2 dans la morphogénèse virale	Sandrine BELOUZARD, Equipe virologie moléculaire et cellulaire, CIIL - sandrine.belouzard@ibl.cnrs.fr	48
Effets de la contamination alimentaire par les microplastiques sur la santé intestinale	Mathilde BODY-MALAPEL – INFINITE U1286, Faculté de Médecine Pôle Recherche – mathilde.body@univ-lille.fr	48
Improving tuberculosis treatment by targeting the host	Priscille BRODIN. Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR 8204 - CIIL - priscille.brodin@inserm.fr	49
Caractérisation moléculaire et cellulaire de sous-clones leucémiques génétiquement définis	Carine BRINSTER. OncoLille, CANTHER, CNRS UMR 9020, INSERM UMR1277, Bd Prof Jules Leclercq, LILLE - carine.brinster@inserm.fr	49
Défaut du compartiment hépatocytaire dans le foie d'hépatite liée à l'alcool et interactions avec les cellules non parenchymateuses	Laurent DUBUQUOY. Infinite, U1286, Faculté de Médecine, pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - laurent.dubuquoy@inserm.fr	50
Parcours Santé de Précision		
The molecular clock in liver fibrosis	Philippe LEFEBVRE, Univ. Lille, UMR Inserm 1011 philippe-claude.lefebvre@inserm.fr	52

Rôle de la O-GlcNAcylation dans la réponse du cancer colorectal à la chimiothérapie FOLFOX	Ikram EL YAZIDI – Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR CNRS 8576, Université de Lille, Cité scientifique, Villeneuve d'Ascq – ikram.el-yazidi@univ-lille.fr	52
Rôle des sites de contact RE-mitochondrie dans la sécrétion de GLP-1 par les cellules L dans le modèle d'organoïdes intestinaux humains	Sophie LESTAVEL, Laboratoire J&K, UMR 1011 INSERM Pôle Recherche, Faculté de Médecine, Lille. sophie.lestavel@univ-lille.fr	53
Développement d'approches thérapeutiques de maladies génétiques causées par des mutations non-sens	Fabrice LEJEUNE – U1277 Inserm / UMR 9020 CNRS – Oncolille fabrice.lejeune@inserm.fr	53
Study of the unfolding protein response (UPR) and glycosylation profile in the brain and plasma of Perinatal Stress (PRS) model rats and after chronic alcohol consumption as a function of sex differences.	Stefania MACCARI, GlycoStress Team, UGSF, UMR 8576 CNRS, Bât C9 Université de Lille – Campus Scientifique, Villeneuve d'Ascq - stefania.maccari@univ-lille.fr	54
Modélisation in vitro des interactions neurones-astrocytes dans le contexte de la maladie d'Alzheimer	Sophie HALLIEZ, Alzheimer & Tauopathies, UMR-S 1172, LiNCog, Lille. - sophie.halliez@inserm.fr	54
Rôle du RAGE (receptor for advanced glycation end products) et du complément dans le vieillissement vasculaire rénal	Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr	55
Évaluation des conséquences rénales à long terme d'un sepsis sévère dans un modèle murin	Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL, laboratoire : U1167 RID-AGE, équipe 5 - marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr	55
Interactions endothélium - cellules immunes dans la stéatohépatite associée au métabolisme.	Anna-Rita CANTELMO et David DOMBROWICZ. UMR 1011. Institut Pasteur de Lille, rue du Pr Calmette. anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr ; david.dombrowicz@pasteur-lille.fr	56
Etude de l'interaction FAT10/PPAR α au cours du développement de la NASH	Audrey HELLEBOID. UMR 1011 « Récepteurs nucléaires, Maladies métaboliques et cardiovasculaires. audrey.helleboid@univ-lille.fr	56
Rôle de « l'ubiquitin-like protein » FAT10 dans le développement de l'insulino-résistance hépatique au cours de la MASH	Réjane PAUMELLE-LESTRELIN. INSERM- UMR1011 « Nuclear receptor, metabolic and cardiovascular diseases” Laboratoire J&K- Faculté de médecine pôle recherche - rejane.lestrelin@univ-lille.fr	57
Evaluation of pharmacological therapies for MASH in a new preclinical mouse model of MASLD	Fanny LALLOYER, UMR1011 (Institut Pasteur of Lille – EGID - University of Lille) - fanny.lalloyer@univ-lille.fr	57

Caractérisation de la O-GlcNAcylation dans les érythrocytes et le plasma de patients avec un diabète de type 1 – Lien avec l'équilibre glycémique et l'exercice	Elsa HEYMAN, Caroline CIENIEWSKI-BERNARD. URePSSS – ULR 7369, équipe Activité Physique, Muscle, Santé, Université de Lille. elsa.heyman@univ-lille ; caroline.cieniewski-bernard@univ-lille.fr	58
Contrôle de l'état de différenciation hépatocytaire par l'ubiquitine D dans les foies lésés	Jérôme EECKHOUTE – INSERM U1011 Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Bâtiment J&K, Lille – jerome.eeckhoute@inserm.fr	58
Compréhension des mécanismes de régulation du métabolisme du Dolichol sur les processus de glycosylation réticulaire	François FOULQUIER, Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR 8576 CNRS - francois.foulquier@univ-lille.fr	59
Caractérisation des hématomes dans un modèle ex vivo innovant, vers une optimisation de la prise en charge des patients présentant une hémorragie intra-cérébrale	Annabelle DUPONT, team 2, UMR Inserm 1011 - annabelle.dupont@univ-lille.fr	59
Rôle du régulateur E2f1 dans les cellules immunitaires au cours de l'obésité et du diabète de type 2	Jean-Sébastien ANNICOTTE – INSERM UMR 1167 RID-AGE – Faculté de Médecine - Pôle Recherche - place de Verdun- Lille – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr	60
Etude de la reprogrammation épitranscriptomique des cellules β pancréatiques par une approche d'inactivation génique ou d'inhibition pharmacologique.	Jean-Sébastien ANNICOTTE – INSERM UMR 1167 RID-AGE – Faculté de Médecine - Pôle Recherche - place de Verdun- Lille – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr	60
Evaluation des dysfonctions cardiaques induites par le diabète de type 2 dans un modèle de cardiomyocytes humains dérivé de cellules souches humaines pluripotentes induites.	Florence PINET – INSERM UMR 1167 RID-AGE – Institut Pasteur de Lille - rue du Professeur Calmette - florence.pinet@pasteur-lille.fr	61
RevErb α dans l'intestin comme cible pour le contrôle des complications liées aux troubles métaboliques	Olivier BRIAND – INSERM U1011 – EGID - Laboratoire JK, Pôle recherche, Faculté de médecine, bd du Pr Leclercq, Lille - olivier.briand@univ-lille.fr	61
Défaut du compartiment hépatocytaire dans le foie d'hépatite liée à l'alcool et interactions avec les cellules non parenchymateuses	Laurent DUBUQUOY. Infinite, U1286, Faculté de Médecine, pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - laurent.dubuquoy@inserm.fr	62
Rôle du récepteur nucléaire ROR alpha dans l'adipocyte et l'homéostasie métabolique	Delphine EBERLE – UMR1011 – Institut Pasteur de Lille, rue Calmette, Lille – delphine.eberle@univ-lille.fr	62
Rôle du glycogène dans le tissu adipeux brun	Alicia MAYEUF-LOUCHART - Laboratoire U1172- Centre de neurosciences et cognition - alicia.mayeuf-louchart@inserm.fr	63

Characterization of a tandem duplication involved in a constitutional epimutation of the MLH1 gene using long-read sequencing and induced pluripotent stem cells	Julie LECLERC - Laboratoire CANTHER, UMR9020 CNRS – U1277 Inserm – Université de Lille – CHU de Lille - julie.leclerc@inserm.fr julie.leclerc@chu-lille.fr	63
Impact of glucocorticoids on islet function: role of SRD5A1 as a modulator of glucocorticoids bioavailability	Stéphanie ESPIARD - Translational Research Laboratory for Diabetes, INSERM UMR1190, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - stephanie.espiard@univ-lille.fr	64
Characterization of calcium pathways involving TRPM2 channel in therapy resistance of breast cancer cells	Dimitra GKIKA - CANTHER - UMR 9020 CNRS – UMR 1277 Inserm, Équipe « Plasticité cellulaire et Cancer » - dimitra.gkika(@)univ-lille.fr	64

Parcours Neurosciences

Projet: **Alpha-synucléine et Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4 dans la mort neuronale ferroptotique dans des modèles et des patients parkinsoniens: recherche translationnelle de cibles thérapeutiques et de biomarqueurs**

Tuteurs: **David DEVOS, Jean-Christophe DEVEDJIAN, Anne-Sophie ROLLAND**. Équipe de recherche INSERM 1172 DVCD. tel : 0320445449 - david.devos@chu-lille.fr

La maladie de Parkinson (MP), est caractérisée par une dégénérescence des neurones dopaminergiques associée à l'agrégation de l'Alpha-synucléine (a-syn) et à l'accumulation de fer dans la substance noire. Nous avons montré que la ferroptose, une forme de mort régulée caractérisée par une peroxydation lipidique dépendante du fer, prévaut dans la mort des neurones dopaminergiques. Associés à une supplémentation de fer, les substrats naturels de l'Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4 (ACSL4) tel que l'Acide Arachidonique (AA) induisent très efficacement et spécifiquement la ferroptose. L'inhibition d'ACSL4 a un puissant effet neuroprotecteur au niveau cellulaire mais reste à démontrer dans les modèles in vivo. Par ailleurs, le niveau d'a-syn dans les neurones dopaminergiques a un impact direct sur la régulation de la ferroptose: la suppression de l'expression de l'a-syn est neuroprotectrice face aux agents pro-ferroptotique alors que la surexpression rend les neurones plus vulnérables.

Le but de ce projet est de déterminer si l'a-syn modulerait la ferroptose via ACSL4, via une relation directe ou indirecte? Nous mènerons cette étude in vitro sur des neurones DA en culture (neurones dopaminergique LUHMES) et in vivo dans les souris DA-DACLS4 (KO d'ACSL4 dans les neurones DA en raison des transgènes Cre-DAT/Lox-ACSL4). Nous utiliserons également des grandes cohortes de patients pour analyser au plan génétique épigénétique et protéique si l'activité d'ACSL4 pourrait être un facteur prédictif. Ces résultats permettront de développer des biomarqueurs et d'appuyer un programme thérapeutique d'inhibiteur d'ACSL4 comme traitement neuro-protecteur.

Titre: **Troubles cognitifs induits par un régime gras: atteinte de la plasticité synaptique?**

Tuteurs: **Michèle BASTIDE et Olivier PÉTRAULT**, INSERM UMR-S1172, Troubles Cognitifs Dégénératifs et Vasculaires. +33 (0)3 20 44 54 49 michele.bastide@univ-lille.fr - olivier.petrault@univ-lille.fr

Contexte scientifique: Le déclin cognitif est défini comme un déclin progressif de la capacité cognitive avec l'âge. Les études cliniques ont montré que la présence à l'âge moyen d'au moins 3 troubles du métabolisme multiplie par 2,5 le risque de développer une démence à un âge avancé. Nous avons développé un modèle murin à long terme qui reproduit l'installation progressive de troubles métaboliques et démontré qu'à l'âge moyen, ces troubles induisaient un déficit cognitif et un découplage entre l'activité neuronale glutamatergique et la réactivité vasculaire dans le cortex préfrontal.

Question de recherche: Le but de ce projet de Master est de caractériser spécifiquement l'intégrité de la plasticité synaptique dans le cortex préfrontal d'animaux développant ces perturbations cognitives.

Méthodes: L'étude porte sur des souris de souche C57Bl6/J soumises soit à un régime normal (ND), soit à un régime enrichi en graisses animales (HFD) pendant 6 mois. Ces souris seront l'objet d'une caractérisation métabolique et comportementale (évaluation de leur motricité et de leur cognition). Enfin, une étude électrophysiologique sur tranches de cerveau frais sera réalisée afin d'évaluer l'intégrité de la plasticité synaptique à court terme (paired-pulse ratio) et à long terme après conditionnement (LTP) en parallèle d'une analyse histologique.

Titre: **Étude des effets de la L-Dopa dans la maladie de Parkinson**

Tuteurs: **Nacim BETROUNI, Charlotte LALOUX**. INSERM U 1172, Service de Neurophysiologie Clinique , Hôpital Roger Salengro, CHRU de Lille – Mail: sophie.hennion@chru-lille.fr - nacim.betrouni@inserm.fr - Tel 03.20.44.63.54

Les médicaments dopaminergiques, comme la L-Dopa, restent le traitement symptomatique de première ligne et le plus efficace dans la maladie de Parkinson. Ils visent essentiellement à agir sur les symptômes moteurs de la maladie. Cependant, en plus d'avoir des réponses motrices hétérogènes parmi les patients, ils peuvent avoir des effets sur les symptômes non-moteurs. Les mécanismes qui sous-tendent ces réponses hétérogènes et pleiotropes restent à ce jour mal compris. Dans cette étude, nous nous proposons d'utiliser l'imagerie par résonance magnétique (IRM), pour étudier ces mécanismes au travers de deux approches complémentaires. Dans la première, nous exploiterons des données de deux cohortes cliniques, Les patients seront stratifiés en fonction de la réponse à la L-Dopa mais également en fonction de l'évolution des symptômes non-moteurs et de leurs IRM multimodales, comparées pour mettre en évidence des patterns spécifiques. La seconde approche utilisera le modèle préclinique rongeur 6-OHDA à travers une étude multimodale de l'effet d'un traitement à la L-Dopa. Les modifications comportementales seront observées et une corrélation anatomo-radiologiques sera réalisée pour associer les modifications d'imagerie aux changements tissulaires. Ces corrélations pourront apporter des éléments de réponse sur les mécanismes impliqués dans la différence de réponse au traitement.

Titre: **Maternal behavior Programming on the interplay of Oxytocin, Sialylation, and Inflammation and its regulation by the probiotic Lactobacillus**

Supervisor: **S. MORLEY-FLETCHER**. Team GlycoStress - UMR 8576 CNRS « Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle », Bât C9 Université de Lille – Villeneuve d'Ascq. 03.20.33.6402; sara.morley-fletcher@univ-lille.fr

Maternal behavior programming plays a pivotal role in shaping the long-term health and adaptive responses of offspring to environmental challenges. This intricate process involves several molecular components, including maternal glucocorticoids, oxytocin (OT), sialylation (a major post-translational modification), and immune response/inflammation. The interconnectedness of these factors impacts immune responses and gut microbiome composition. The M2-2024 project aims to uncover the molecular mechanisms governing the brain-gut axis and understand their roles in the pathological programming caused by maternal stress in the adult male and female offspring. Also, it aims to explore the regulatory action of the probiotic *Lactobacillus reuteri* on maternal and offspring health. The research employs a rat model of Perinatal Stress (PRS), known to result in reduced OT levels, deficient maternal care, increased inflammation, metabolic syndrome and impaired sialylation in adult offspring. The core hypothesis of the M2-2024 project is that maternal behavior programming arises from the intricate relationship between maternal stress-induced inflammation, systemic and central alterations in N-glycan sialylation, and the subsequent impairment of OT signaling and anti-stress pathways in both mothers and their offspring. The project will investigate the male and female PRS offspring whose mothers have been treated or not with *L. reuteri* during postpartum period. We will consider epigenetic regulation and analyze the sialylation and inflammatory crosstalk within the gut-brain-axis. M2-2024 project holds the promise of unveiling critical insights into the mechanisms underpinning pathology induced by early-life stress and pave the way for novel therapeutic strategies to support maternal well-being and pups' development.

METHODOLOGY. Our animal model is the PRS rat, which has undergone comprehensive characterization in terms of maternal behavior and OT-mediated phenotypes. We will investigate male and female PRS offspring in comparison to unstressed controls, with or without maternal treatment with *L. reuteri*. It's worth noting that estrogens play a role in the expression of glycosyltransferases and sialidases, as well as the inflammatory profile and PRS can lead to sex-specific effects and changes in sex hormones. We will provide sialylation analysis and will focus on inflammatory markers (citokines..) in the brain and the gut.

Titre: **SKYNET: SKYing histones from fibrin NETwork in intracerebral haemorrhage**

Tuteur: **Vincent BEREZOWSKI**, INSERM UMR-S1172 – Lille Neurosciences & Cognition, Équipe Troubles Cognitifs Dégénératifs & Vasculaires. 03 20 44 54 49 - vincent.berezowski@univ-lille.fr

Au début d'une hémorragie intracérébrale, l'entrée du sang dans le cerveau comprime mécaniquement le tissu et augmente rapidement la pression intracrânienne. Ceci entraîne une nécrose tissulaire et une baisse de la perfusion sanguine cérébrale. C'est un événement dévastateur, avec un taux de mortalité élevé. Les survivants subissent des séquelles affectant leur qualité de vie jusqu'à la dépendance. Comme aucun traitement spécifique n'existe, notre équipe a proposé un vaste programme de recherche ciblant les trois étapes de l'histoire naturelle de cet événement. La 2^e étape est la stabilisation de l'hématome, qui met fin à son expansion mortelle, mais qui permet la lyse des globules rouges et l'action neurotoxique de leurs produits de dégradation. L'évacuation de l'hématome par chirurgie mini-invasive est un traitement prometteur, mais qui n'a pas réussi à prouver de bénéfice dans un vaste essai clinique. Réalisée à l'aide d'une enzyme fibrinolytique, cette chirurgie est entravée par la présence d'un réseau dense de fibres épaisses de fibrine dans l'hématome. Nous proposons l'hypothèse que ces fibres pourraient être induites par les NETs (Neutrophil Extracellular Traps). Ce réseau entrelacé d'ADN et de protéines est libéré par les neutrophiles recrutés lors de l'inflammation au cours d'un processus appelé NETose. Alors que l'ADN des NETs est désigné comme cible thérapeutique avec des effets mitigés, une autre littérature suggère qu'*in vitro*, les protéines histones libérées lors de la NETose, mais aussi lors de la nécrose tissulaire, pourraient augmenter l'épaisseur des fibres de fibrine et inhiber la fibrinolyse. L'objectif du projet est d'explorer le potentiel thérapeutique de l'inhibition des histones extracellulaires dans l'hématome intracérébral. La première étape débutera en Master 2 et consistera à vérifier les effets des histones sur la densité de la fibrine dans le sang de rat *ex vivo*, et à évaluer une stratégie d'inhibition. En parallèle, des cerveaux de rats préalablement extraits à partir de notre modèle d'hémorragie intracérébrale seront examinés par histologie pour identifier le temps d'apparition de la fibrine dense et des NETs. Le (La) candidat(e) manipulera des rats et effectuera des extractions de sang ainsi que des analyses histologiques et biochimiques.

Projet : **Modélisation *in vitro* des interactions neurones-astrocytes dans le contexte de la maladie d'Alzheimer**

Tutrice : **Sophie HALLIEZ**, Alzheimer & Tauopathies, UMR-S 1172, LiNCog, Lille. 03 20 29 75 53 - sophie.halliez@inserm.fr

La maladie d'Alzheimer (MA) est une protéinopathie neurodégénérative caractérisée par l'accumulation anormale de deux types d'agrégats protéiques au niveau du cerveau : des dépôts amyloïdes extracellulaires et des dégénérescences neurofibrillaires majoritairement constituées de protéine tau anormale. Les travaux de recherche actuels focalisent principalement sur le mode de propagation de ces protéines et sur la perte synaptique et neuronale qui en découle. Mais il est de plus en plus évident que les astrocytes jouent un rôle important dans le développement de la MA et que d'autres anomalies cellulaires sont présentes dans le cerveau des patients, dont la surexpression du récepteur A2A de l'adénosine par les astrocytes et les neurones.

Notre objectif est d'explorer les interactions neurones-astrocytes par le prisme de la surexpression pathologique du récepteur A2A par les astrocytes dans le contexte de la MA. Pour cela, nous reconstituerons et caractériserons des synapses tripartites via un modèle de chambre microfluidique montée sur microelectrode array. Dans ce système, nous induirons la surexpression du récepteur A2A spécifiquement dans les astrocytes en présence ou non de tau anormale et nous en évaluerons les effets sur la connectivité et sur la fonction astrocytaire.

Titre : Impact de la dynamique phosphorylation/O-GlcNAcylation sur l'interaction entre l' α B-crystalline et les filaments intermédiaires de desmine dans des cellules musculaires squelettiques soumises à un stress protéotoxique.

Tuteurs : Caroline CIENIEWSKI-BERNARD / Tony LEFEBVRE. URePSSS-ULR7369, équipe Activité Physique, Muscle, Santé / UGSF-UMR8576, équipe Regulation of molecular and cellular mechanisms by O-GlcNAcylation / Université de Lille. 03 74 00 82 13 / 03 20 43 47 58 - caroline.cieniewski-bernard@univ-lille.fr / tony.lefebvre@univ-lille.fr

Les filaments intermédiaires de desmine sont les gardiens de l'intégrité du muscle squelettique, contribuant à la régulation de nombreux processus intracellulaires. Lors de stress protéotoxiques, ces filaments intermédiaires sont fortement déstabilisés, conduisant à la perte des fonctions cellulaires associées. Or, la desmine est ciblée par son chaperon moléculaire, l' α B-crystalline. Or, des données du laboratoire suggèrent que les modifications post-traductionnelles de l' α B-crystalline, notamment la phosphorylation et la O-GlcNAcylation, pourraient être impliquées dans la modulation de l'interaction entre les deux protéines partenaires.

Le but de notre projet est de caractériser finement cette dynamique phosphorylation/O-GlcNAcylation de l' α B-crystalline dans le ciblage du réseau de desmine dans des cellules musculaires squelettiques soumises à différents stress protéotoxiques. A termes, notre projet pourrait permettre de définir de nouvelles stratégies thérapeutiques permettant de cibler ce réseau de filaments de desmine, altéré dans différentes conditions pathologiques telles les myopathies myofibrillaires, les cardiomyopathies, mais également l'insuffisance cardiaque, l'asthme ou le diabète de type II.

Titre : Caractérisation fonctionnelle des variants d'expression du gène PLCG2 associés au risque de maladie d'Alzheimer.

Tutrice : Julie DUMONT, INSERM UMR 1167, julie.dumont@univ-lille.fr

Contexte scientifique : La maladie d'Alzheimer (MA) est la principale cause de démence. Les méta-analyses d'études d'association pangénomiques ont identifié plusieurs variants du gène PLCG2 associés au risque de développer la MA. Cependant, le rôle potentiel de ces variants sur l'expression de PLCG2 est méconnu alors qu'un impact délétère de la sous-expression de PLCG2 sur la fonction synaptique, le métabolisme de l'APP et la phosphorylation de Tau dans les neurones a été observé.

Objectifs : Le but de ce projet est de caractériser le rôle fonctionnel des variants d'expression du gène PLCG2 associés au risque de MA.

Méthodes appliquées : Le projet consistera à réaliser des analyses de prédiction bioinformatique et des expériences de gènes rapporteurs luciférase dans des lignées cellulaires.

Résultats attendus : L'identification de variants fonctionnels de PLCG2 affectant l'expression génique confortera l'hypothèse d'un rôle significatif de ce gène dans la physiopathologie de la MA. Ce projet permettra de sélectionner les variants fonctionnels de PLCG2 dont le rôle sera analysé dans des neurones dérivés de cellules souches pluripotentes induites éditées par CRISPR-Cas9.

Titre: **Contrôle hormonal de l'oligodendrogenèse gestationnelle**

Tutrice: **Ariane SHARIF**. UMR-S1172, Lille Neuroscience & Cognition Research Center. Laboratoire Développement et Plasticité du Cerveau Neuroendocrine (<https://hypothalamus.eu/>). Bâtiment Biserte, 1 place de Verdun, Lille. 03-20-62-20-65 - ariane.sharif@inserm.fr

La réussite d'une gestation nécessite de profondes modifications dans le fonctionnement cérébral afin d'induire les adaptations centrales et périphériques requises au bon déroulement de la grossesse, à l'accouchement, à la lactation et à l'apparition du comportement maternel. Des travaux du laboratoire ont récemment révélé un nouveau processus de plasticité cérébrale associé à la gestation chez la rate, en montrant que la gestation favorise la formation de cellules du lignage oligodendroglial dans l'hypothalamus, et que la production de ces nouvelles cellules est importante pour la mise en place du comportement maternel. Cependant, les mécanismes régulant cette oligodendrogenèse gestationnelle dans l'hypothalamus restent à explorer. La gestation s'accompagne de profondes modifications dans les concentrations de plusieurs hormones, en particulier les œstrogènes, la progestérone et la prolactine. Ces hormones sont connues d'une part pour promouvoir la mise en place du comportement maternel via des mécanismes encore mal compris, et d'autre part pour réguler l'oligodendrogenèse dans d'autres régions cérébrales que l'hypothalamus. Nous proposons donc l'hypothèse que les hormones de la gestation pourraient être les déterminants moléculaires favorisant l'oligodendrogenèse gestationnelle dans l'hypothalamus.

Ce projet vise à rechercher si l'oligodendrogenèse dans l'hypothalamus chez la rate adulte est régulée par les hormones, en particulier les hormones de la reproduction (stéroïdes gonadiques, prolactine). Il comprendra des expériences *in vivo* (analyse de l'expression des récepteurs aux hormones, modulations hormonales et conséquences sur la néogenèse cellulaire) et *in vitro* (cultures primaires de cellules oligodendrogiales) chez la rate. La réalisation de ce projet de recherche permettra de mieux comprendre les mécanismes de régulation physiologique de la plasticité cellulaire dans l'hypothalamus adulte ainsi que les bases neurobiologiques du comportement maternel.

Titre: **Impact d'un régime alimentaire riche en graisse sur une matrice extracellulaire à l'interface sang/cerveau**

Tutrice: **Virginie MATTOT**. Inserm U1172, Lille Neuroscience & Cognition. Groupe: Development and plasticity of the neuroendocrine brain. 03.59.50.75.51 – virginie.mattot@inserm.fr

Les communications entre la périphérie et le cerveau sont essentielles pour le maintien de l'homéostasie énergétique. En particulier, les hormones métaboliques, libérées dans la circulation sanguine par les organes périphériques, informent en continu le cerveau du statut énergétique de l'individu pour induire une réponse appropriée. Nous avons récemment identifié l'importance d'une matrice extracellulaire à l'interface entre la périphérie et le cerveau pour finement réguler ces communications. En effet, nous avons montré qu'une plasticité de cette matrice extracellulaire module l'entrée et la diffusion des hormones périphériques dans un centre cérébral majeur pour le contrôle de l'homéostasie énergétique.

Actuellement, il n'est pas établi si un régime alimentaire riche en graisses interfère avec le dépôt ou la plasticité de cette matrice.

L'objectif du projet de recherche sera de déterminer les impacts d'un tel régime alimentaire sur cette matrice extracellulaire en réalisant des analyses par RT-qPCR et des immunomarquages sur des extraits et des coupes de cerveau issus d'animaux soumis à ce type de régime alimentaire.

A plus long terme, les conséquences métaboliques des anomalies identifiées dans cette matrice extracellulaire seront étudiées et des approches thérapeutiques seront envisagées.

Sujet : **Etudes de déterminants génétiques de la maladie de Parkinson**

Tutrice : **Marie-Christine CHARTIER-HARLIN**, Université de Lille, Inserm, CHU-Lille, LiNCog, UMR-S1172, place de Verdun, Lille. 03 20 95 27 29 - Marie-Chistine.Chartier-Harlin@inserm.fr

La maladie de Parkinson (MP) est caractérisée par la mort des neurones dopaminergiques et des dépôts d'alpha-synucléine (a-syn) dans les neurones survivants. Les mutations du gène de l'a-syn (SNCA) et celui de la parkine (PK) conduisent respectivement à des formes autosomiques dominantes et récessives de la MP. La PK est une E3-ligase et aussi un facteur de transcription (TF). D'autres facteurs génétiques modulent le risque de MP (ex : GBA1, LRRK2...) conduisant à une accumulation d'a-syn. L'hypothèse serait que la PK régulerait la transcription de l'a-syn directement ou indirectement via l'implication d'autres facteurs génétiques. Le but ultime du projet est de mieux comprendre la biologie de ces protéines clefs impliquées dans la MP. Pour cela, différents tests cellulaires et moléculaires, ont été menés ainsi que des études Omics dont des études de ChIP et de transcriptomes/ traductomiques de cellules issues de patients porteurs de mutations impliquées dans la MP (PRKN, SNCA etc) et de cas sporadiques à différents stades de la maladie. Le dérèglement de protéines d'intérêt permettra l'identification de voies biologiques qui feront l'objet de validations cellulaires au cours du projet de master2. Ce projet est actuellement financé par une ANR.

Sujet : **Etude de perturbations du trafic cellulaire dans la maladie de Parkinson.**

Tutrice : **Marie-Christine CHARTIER-HARLIN**, Université de Lille, Inserm, CHU-Lille, LiNCog, UMR-S1172, place de Verdun, Lille. 03 20 95 27 29 - Marie-Chistine.Chartier-Harlin@inserm.fr

Comprendre les mécanismes permettant le transfert de l'alpha-synucléine entre les cellules (a-syn) est une question importante pour le développement de futures thérapies neuroprotectrices ou l'identification de biomarqueurs de synucléopathies, mais ces connaissances restent insuffisantes. Par exemple, cette protéine emblématique de la maladie de Parkinson, peut sortir de la cellule par différents mécanismes de sécrétion non-conventionnelle. Or, nos travaux ainsi que ceux d'autres équipes montrent que des protéines impliquées dans le trafic cellulaire, interviennent dans sa sécrétion extracellulaire et/ou associées aux vésicules extracellulaires (EVs).

Nous proposons d'étudier en modèles cellulaires les niveaux de protéines impliquées dans la maladie de Parkinson telles que l'a-syn, LRRK2, ou d'autres impliquées dans le trafic afin de mieux comprendre le rôle de ces protéines.

Les méthodes utilisées sont déjà mises au point et mettent en jeu les techniques de transductions de vecteurs viraux, transfections cellulaires, modulation pharmacologique ou moléculaire, isolements d'EVs, Western-Blot, Phostag, Elisa, immunocytochimie, microscopie confocale et de spectrométrie de masse.

Title : **Development of new types of analgesics**

Supervisor : **Priscille BRODIN**. Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR 8204 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille - priscille.brodin@inserm.fr

Understanding pain and relieving its symptoms are two crucial scientific and societal challenges, as the arsenal of analgesics is largely insufficient. One solution to address this situation would be to draw inspiration from "analgesic" solutions deployed and preserved by Mother Nature. Our project is based on a natural system identified by our team (Marion et al. 2014 Cell). Following observations made with patients infected by *M. ulcerans* (the etiological agent of Buruli ulcer) presenting with massive, painless skin ulcers, we discovered a previously undescribed analgesic system. We demonstrate that the absence of pain is caused by an interaction between mycolactone (a bacterial lipid) and neurons. More precisely, we have identified that mycolactone binds to the AT2R receptor, which specifically activates TRAAK-type potassium channels. This mechanism of action is particularly novel and differs from those of currently available analgesics.

The candidate will search for AT2R ligands inducing TRAAK activation. High-throughput screening of molecules from various chemical library collections capable of activating our system has been undertaken ; the candidate will validate the obtained hits and continue their development through a structure-activity approach (SAR). The candidate will be trained in cell culture, preparation of compounds in microplates on a robotic platform, development of fluorescence cellular assays, confocal microscopy acquisitions, automated image analysis, and results formatting.

Sujet : **Etude de l'organisation des gènes des Opsines des photorécepteurs cônes chez les patients atteints d'anomalies de la vision des couleurs.**

Tutrice : **Claire-Marie DHAENENS**, co-Tuteur : **Vasily SMIRNOV**, Lille Neurosciences et Cognition, Inserm UMR-S 1172, Equipe 1- 0320444953 - claire-marie.dhaenens@inserm.fr

La vision des couleurs chez l'homme est trichromatique. Elle est due à la présence de 3 types de photorécepteurs cônes, qui se différencient par le type d'Opsine qu'ils contiennent : les Opsines verte, rouge et bleue. Ces Opsines sont codées par différents gènes : OPN1SW codant pour l'Opsine S bleue, est situé sur le chromosome 7, les gènes OPN1LW pour l'Opsine rouge et OPN1MW pour l'Opsine verte. Les opsines rouges et vertes sont situées sur le chromosome X, et sont naturellement disposées en tandem, l'un derrière l'autre, avec un rouge (OPN1LW) en amont et un à plusieurs verts (OPN1MW) à la suite. Ces gènes dérivent d'un ancêtre commun et partagent donc une très forte homologie de séquence. Les gènes rouge et vert ont des séquences identiques à 96 %, ce qui correspond à seulement 20 acides aminés différents. En raison de cette forte homologie et de la proximité étroite de OPN1LW et OPN1MW, des réarrangements se produisent fréquemment par recombinaison non homologue entre les gènes d'Opsines et de nombreuses pathologies en découlent, allant de la simple anomalie de la vision des couleurs (trichromatisme anormal), à la perte de la vision du rouge ou du vert (dichromatisme), ou des deux (monochromatisme à cônes bleus). Les daltonismes (anomalie de la vision des couleurs sans baisse de vue) sont extrêmement fréquents dans la population générale (10% des hommes, 0.5% des femmes), ont un fort impact pour l'avenir socio-professionnel des patients (limitation d'accès aux certaines professions aux exigences colorées) mais leurs mécanismes moléculaires ne sont pas entièrement déchiffrés et il n'existe à ce jour aucun traitement. Les anomalies de la vision de couleurs avec baisse d'acuité visuelle (monochromatisme à cônes S, dystrophies des cônes liés aux opsines) sont à l'origine d'un handicap visuel précoce et de co-morbidités liées à un nystagmus et aux complications d'une myopie forte, systématiquement associé au tableau clinique. Néanmoins, l'organisation des gènes, leurs réarrangements et les variations (structure du cluster : ordre des gènes, nombre de leurs copies, présence des exons interchangeés dans les copies) sont très mal connus car l'analyse par séquençage conventionnel est extrêmement difficile du fait de la forte homologie de séquence et de la présence de plusieurs copies. La confirmation diagnostique est donc rarement possible. Pour répondre à ces limitations techniques, le séquençage dit de troisième génération (long read sequencing) a été mis en place. Il permet de séquencer des longs fragments de 1 kb à 100 kb. L'objectif de notre projet est d'utiliser la technologie Oxford Nanopore pour analyser une cohorte de 50 patients atteints de différentes anomalies de la vision des couleurs. La séquence totale du tandem de gènes à analyser est de 120 Kb, deux stratégies sont donc possibles: i) soit par amplification de 4 amplicons chevauchants de près de 30 kb, ii) soit par méthode de l'adaptive sampling, c'est à dire la sélection de la région d'intérêt lors du séquençage complet du génome. Une première étape de mise au point sera nécessaire pour l'amplification et le séquençage, suivi d'un développement bioinformatique adapté. Nous confronterons ensuite les résultats au phénotype de nos patients. Ainsi, le séquençage en long read permettra d'identifier et de mieux comprendre les mécanismes à l'origine des pathologies de nos patients.

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

Tutrice : **Annabelle DUPONT**, équipe 2, UMR Inserm 1011 - 03.20.44.48.45 - annabelle.dupont@univ-lille.fr

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).

Title : Deciphering the synapto-protective effect of the Alzheimer's genetic risk factor Pyk2

Director: **Devrim KILINC** - Inserm U1167 – Risk Factors and Molecular Determinants of Aging-related Diseases - Team: Molecular Determinants of Alzheimer's Disease and Related Disorders - devrim.kilinc@pasteur-lille.fr

Chemical synapses of the nervous system form the basis of learning and memory. Their regulation is a key factor in understanding neuropathological processes leading to cognitive decline and dementia. Accordingly, synapse loss due to the disruption of neuronal plasticity mechanisms is an early event in the Alzheimer's disease (AD) pathogenesis (10.1007/s00401-019-02004-0). Pyk2, product of the AD genetic risk factor PTK2B, is a Ca²⁺-activated non-receptor tyrosine kinase closely associated with the focal adhesion pathway and known to be involved in the regulation of synapses. Pyk2 activation is disrupted by the binding of the toxic oligomers of amyloid- β (A β), a main actor in AD pathophysiology, to a particular synaptic receptor complex (10.1074/jbc.M116.720664). Using custom microfluidic co-cultures, we recently demonstrated that postsynaptic Pyk2 overexpression is protective against amyloid- β (A β)-induced synaptic toxicity (10.1093/braincomms/fcaa139), supporting in vivo findings from an AD mouse model (10.1016/j.expneurol.2018.05.020). To further dissect the underlying molecular mechanisms leading to this protective effect, we conducted a bulk RNA sequencing using primary neuronal cultures overexpressing wild-type or mutated (constitutively inactive) Pyk2, exposed to cell-secreted, toxic A β forms. Pathway enrichment analysis highlighted the involvement of cytoskeletal and cell adhesion molecules, notably, cadherin, as well as the G protein-coupled receptor signaling, in the neuronal transcriptomic response to A β -induced synaptic toxicity. In this M2 project, we aim to further dissect these mechanisms via pharmacological and/or genetic interventions, using imaging-based synaptic read-outs and microelectrode array recordings (10.1021/acsbiomaterials.3c00997). Describing the molecular mechanisms underlying the protective effect of Pyk2 may lead to novel therapeutic strategies targeting the amyloid pathology.

Parcours Diabète et Maladies cardiovasculaires

Title: **The molecular clock in liver fibrosis**

Mentor: **Philippe LEFEBVRE**, U. Lille, UMR Inserm 1011. E-mail : philippe-claude.lefebvre@inserm.fr

Laboratory background: Our laboratory has a longstanding interest in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and liver fibrosis. We identified altered signaling pathways in humans which may be causal in disease progression (see references below).

Scientific background: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a spectrum of liver dysfunctions detected in its mildest form as the build-up of excess fat in the liver. Intimately linked to obesity and type 2 diabetes, the disease progresses within years towards an inflammatory state (NASH) and eventually induces liver fibrosis, a detrimental excess of extracellular matrix deposition that strongly impacts physical and functional properties of this organ. The major contributors in the fibrogenic response to liver damage are hepatic stellate cells (HSCs). During NASH, HSCs undergo a critical 'activation' process characterized notably by massive extracellular matrix component production.

Project: The circadian clock (CC) is critical in establishing cellular and tissular homeostasis. Timed by zeitgebers such as light and food intake, organs exhibit cyclic expression of CC mRNA transcripts and of proteins which adjust cellular activities to external cues. Our preliminary data suggest that components of the molecular clock participates into HSC activation. This project will investigate further this relationship.

M2 Objectives: Upon completion of his/her training in an environment fostering scientific interactions, the candidate is expected to master basic cellular and molecular biology techniques and essential analysis tools, to be able to apprehend the general purpose of his/her research project, and to acquire written and oral presentation skills.

Key references: Johanns M. et al. (2023) JHEP Rep., 6(1) 100948 ; Berthier A. et al. (2018) PNAS, 115, E11033-E11042 ; Bobowski-Gerard M. et al. (2022) Nat. Comm. 13.-33063-9 ; Lefebvre P. et al. (2017) JCI Insight 2, e92264 ; Vandel J. et al. (2021) Hepatology 73, 920-936.

Titre : **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, Lille. 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.

Titre: SKYNET: SKYing histones from fibrin NETWORK in intracerebral haemorrhage

Tuteur: **Vincent BEREZOWSKI**, INSERM UMR-S1172 – Lille Neurosciences & Cognition, Équipe Troubles Cognitifs Dégénératifs & Vasculaires. 03 20 44 54 49 - vincent.berezowski@univ-lille.fr

Au début d'une hémorragie intracérébrale, l'entrée du sang dans le cerveau comprime mécaniquement le tissu et augmente rapidement la pression intracrânienne. Ceci entraîne une nécrose tissulaire et une baisse de la perfusion sanguine cérébrale. C'est un événement dévastateur, avec un taux de mortalité élevé. Les survivants subissent des séquelles affectant leur qualité de vie jusqu'à la dépendance. Comme aucun traitement spécifique n'existe, notre équipe a proposé un vaste programme de recherche ciblant les trois étapes de l'histoire naturelle de cet événement. La 2^e étape est la stabilisation de l'hématome, qui met fin à son expansion mortelle, mais qui permet la lyse des globules rouges et l'action neurotoxique de leurs produits de dégradation. L'évacuation de l'hématome par chirurgie mini-invasive est un traitement prometteur, mais qui n'a pas réussi à prouver de bénéfice dans un vaste essai clinique. Réalisée à l'aide d'une enzyme fibrinolytique, cette chirurgie est entravée par la présence d'un réseau dense de fibres épaisses de fibrine dans l'hématome. Nous proposons l'hypothèse que ces fibres pourraient être induites par les NETs (Neutrophil Extracellular Traps). Ce réseau entrelacé d'ADN et de protéines est libéré par les neutrophiles recrutés lors de l'inflammation au cours d'un processus appelé NETose. Alors que l'ADN des NETs est désigné comme cible thérapeutique avec des effets mitigés, une autre littérature suggère qu'*in vitro*, les protéines histones libérées lors de la NETose, mais aussi lors de la nécrose tissulaire, pourraient augmenter l'épaisseur des fibres de fibrine et inhiber la fibrinolyse. L'objectif du projet est d'explorer le potentiel thérapeutique de l'inhibition des histones extracellulaires dans l'hématome intracérébral. La première étape débutera en Master 2 et consistera à vérifier les effets des histones sur la densité de la fibrine dans le sang de rat *ex vivo*, et à évaluer une stratégie d'inhibition. En parallèle, des cerveaux de rats préalablement extraits à partir de notre modèle d'hémorragie intracérébrale seront examinés par histologie pour identifier le temps d'apparition de la fibrine dense et des NETs. Le (La) candidat(e) manipulera des rats et effectuera des extractions de sang ainsi que des analyses histologiques et biochimiques.

Titre : Rôle du RAGE (receptor for advanced glycation end products) et du complément dans le vieillissement vasculaire rénal

Tutrices : **Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL**, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr

L'incidence croissante de l'insuffisance rénale chronique et la durée de vie insuffisante des greffons rénaux soulignent l'enjeu majeur du vieillissement rénal, dont le processus est médié par le développement de lésions vasculaires. Les preuves du rôle du récepteur des produits de glycation avancée (RAGE) dans les processus de vieillissement rénal s'accumulent, cependant les mécanismes moléculaires doivent être clarifiés. Dans ce projet, nous émettons l'hypothèse que le RAGE et son activation par divers ligands, y compris certaines protéines du complément, peuvent participer au vieillissement vasculaire rénal. Les réponses cellulaires à l'activation de RAGE impliquent l'expression de molécules pro-inflammatoires, oxydantes, adhérentes, apoptotiques, angiogéniques et profibrotiques, autant de mécanismes dont on pense qu'ils participent activement à la sénescence rénale. L'activation excessive du complément, un système essentiel de l'immunité innée, a déjà été impliquée dans diverses pathologies vasculaires liées au vieillissement. En outre, le rein est particulièrement sensible au complément. Pour décrypter la relation entre RAGE et le système du complément, l'apport d'un modèle cellulaire sera particulièrement intéressant. Nous avons deux hypothèses principales : 1- certaines protéines du complément lient RAGE et pourraient ainsi moduler ses fonctions ; 2- l'activation de RAGE pourrait avoir un impact sur le complosome intracellulaire, et ainsi participer au dysfonctionnement mitochondrial qui en découle. Pour étudier ces hypothèses dans le contexte du vieillissement vasculaire, nous utiliserons un modèle cellulaire de sénescence répllicative ainsi qu'un modèle de sénescence prématurée induite par un stress (LPS) appliqué aux cellules endothéliales humaines. Les HUVEC (cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine) seront cultivées à long terme pour induire une sénescence répllicative, et nous appliquerons ce modèle aux cellules endothéliales glomérulaires (GEC) pour nous concentrer davantage sur le vieillissement vasculaire dans le rein. Nous mesurerons d'abord les marqueurs de sénescence ainsi que la persistance de marqueurs endothéliaux spécifiques à différents passages. Nous comparerons ensuite les cellules endothéliales jeunes (passage précoce, P3-P5), intermédiaires (P9-P13) et vieilles (passage tardif > P15), en nous concentrant particulièrement sur l'expression de RAGE, par IF et cytométrie de flux, l'activation extracellulaire du complément (dépôts de C3c et C5b9 par IF et cytométrie de flux ; C3a, C5a et C5b9 soluble par ELISA), l'expression des gènes des protéines du complément, et les fonctions mitochondriales.

Titre: Évaluation des conséquences rénales à long terme d'un sepsis sévère dans un modèle murin

Tutrices : **Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL**, laboratoire : U1167 RID-AGE, équipe 5 - marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr

Le sepsis sévère s'accompagne dans plus de 50% des cas d'une défaillance rénale. Les conséquences fonctionnelles rénales à long terme sont mal caractérisées, mais il a été récemment décrit une sur-incidence d'insuffisance rénale chronique dans cette population. Les mécanismes de cette insuffisance rénale chronique à distance d'un sepsis, susceptible de s'apparenter à un vieillissement accéléré, restent mal compris et il n'existe actuellement pas d'approche pharmacologique permettant d'en améliorer le pronostic. Ce projet vise ainsi à caractériser dans un modèle murin les conséquences rénales à long terme d'un sepsis et à mieux comprendre les mécanismes et voies de signalisation impliqués dans la survenue d'une insuffisance rénale chronique (vieillissement rénal accéléré). Le modèle murin est d'ores et déjà en place au sein du laboratoire (Pierre A. *et al.* Biology 2023) et consiste en l'induction d'une péritonite par injection intrapéritonéale de selles hétérologues suivi d'une « réanimation » active à partir de la 12^{ème} heure (antibiothérapie, hydratation, analgésique) dans le but de se rapprocher de la prise en charge clinique chez l'humain. Dans le cadre de ce modèle, des reins ont été collectés à 10 jours et 3 mois (M3) post-sepsis évaluant les conséquences moyen et long-terme respectivement. Ce projet se consacrera à l'étude des reins prélevés chez les souris survivantes à M3, en termes de structure (colorations histologiques), ainsi qu'au niveau moléculaire avec une approche transcriptomique sans a priori dans un premier temps (RNA-seq) puis ciblée sur les voies modulées dans le contexte de vieillissement accéléré du sepsis (QuantiGene, RT-qPCR). Nous nous intéresserons également à l'activité mitochondriale, à l'inflammation, aux marqueurs de souffrance rénale et de sénescence cellulaire (par marquage IHC ou IF, dosage ELISA, WB, spectrophotométrie...). Par ailleurs, la fonction rénale de souris survivantes sera également évaluée à M3 long terme, par évaluation non-invasive du débit de filtration glomérulaire (DFG) grâce à un dispositif transdermique et par dosage biochimique de la créatinine et de l'urée plasmatique.

Matériels et méthodes: Sur souris : évaluation du DFG par dispositif transdermique ; Sur échantillons murins : Immunohistochimie, Immunofluorescence, ELISA, WB, RT-PCR, QuantiGene, RNA-seq (sous traité)

Titre : Interactions endothélium - cellules immunes dans la stéatohépatite associée au métabolisme.

Tuteurs : **Anna-Rita CANTELMO, David DOMBROWICZ**. UMR 1011. Institut Pasteur de Lille, rue du Pr Calmette. Lille. 0320877967.

anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr ; david.dombrowicz@pasteur-lille.fr

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 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 du passage transendothélial.

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

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

Tutor: **Anna Rita CANTELMO**. U1011 - Récepteurs Nucléaires, Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires, Institut Pasteur de Lille, Rue du Professeur Calmette, Lille. 03 20 33 70 78
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.

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

Tutrice : **Audrey HELLEBOID**. UMR 1011 « 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.

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

Tutrice : **Réjane PAUMELLE-LESTRELIN**. INSERM- UMR1011 « Nuclear receptor, metabolic and cardiovascular diseases” Laboratoire J&K-Faculté de médecine pôle recherche - Bd Pr Jules Leclerc-Lille - 03 20 97 42 09 - rejane.lestrelin@univ-lille.fr

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.

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

Supervisor : **Fanny LALLOYER**, UMR1011 (Institut Pasteur of Lille – EGID - University of Lille) - +33320877996 - 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.

Titre : **Caractérisation de la O-GlcNAcylation dans les érythrocytes et le plasma de patients avec un diabète de type 1 – Lien avec l'équilibre glycémique et l'exercice**

Tutrices : **Elsa HEYMAN, Caroline CIENIEWSKI-BERNARD**. URePSSS – ULR 7369, équipe Activité Physique, Muscle, Santé, Université de Lille – Tel ; 0678959955 - elsa.heyman@univ-lille ; caroline.cieniewski-bernard@univ-lille.fr

A long terme, les patients présentant un diabète de type 1 ont un risque élevé de complications vasculaires (rétinopathies, néphropathies, arrêt cardiaque...) ; causes majeures de morbidité et de mortalité, ces complications vasculaires affectent la qualité de vie des patients. En particulier, alors que l'exercice est reconnu comme bénéfique dans un grand nombre de pathologies chroniques, celui-ci pourrait au contraire avoir des conséquences délétères chez des sujets diabétiques en raison d'une dysfonction endothéliale.

Par ailleurs, la O-GlcNAcylation (O-N-acétyl- β -D-glucosaminylation) est une glycosylation atypique reconnue comme un senseur nutritionnel, dépendant notamment du taux de glucose. Cette glycosylation est impliquée dans certains dysfonctionnements du système vasculaire. De plus, des données préliminaires de notre équipe ont mis en évidence une corrélation entre O-GlcNAcylation, équilibre glycémique et capacité aérobie au niveau musculaire mais également au niveau des érythrocytes.

L'objectif de ce projet est de caractériser des changements de O-GlcNAcylation dans le plasma et les érythrocytes de sujets présentant un diabète de type 1 soumis à un exercice physique. En particulier, nous nous focaliserons sur la eNOS et le métabolisme du NO. A plus long terme, notre objectif est d'identifier des marqueurs circulants reflétant un défaut de l'homéostasie vasculaire en réponse à une hypo- ou une hyperglycémie à l'exercice.

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

Tuteur : **Jérôme EECKHOUTE** – INSERM U1011 Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Bd du Professeur Leclerc, Bâtiment J&K, Lille – 03.20.97.42.19 - jerome.eeckhoute@inserm.fr

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.

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

Tutrice : **Annabelle DUPONT**, équipe 2, UMR Inserm 1011 - 03.20.44.48.45 - annabelle.dupont@univ-lille.fr

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).

Titre : **Rôle du régulateur E2f1 dans les cellules immunitaires au cours de l'obésité et du diabète de type 2**

Tuteur : **Jean-Sébastien ANNICOTTE** – INSERM UMR1167 RID-AGE – Faculté de Médecine-Pôle Recherche- 1 place de Verdun- Lille – +33.(0)3.20.97.42.54 – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr

Le diabète de type 2 (DT2) est une pathologie chronique qui se caractérise par une résistance à l'insuline des tissus périphériques et une perte progressive de fonction des cellules bêta pancréatiques entraînant une hyperglycémie. De nombreuses données ont démontré le rôle clé joué par des acteurs moléculaires de l'inflammation dans la résistance à l'insuline et la perte de fonction des cellules bêta pancréatiques. Le facteur de transcription E2f1, initialement décrit comme l'un des régulateurs principaux du cycle cellulaire, a une fonction importante dans le contrôle de l'homéostasie énergétique. Nous proposons dans ce projet d'étudier la contribution spécifique de E2f1 dans les macrophages dans la perte de fonction des cellules bêta pancréatiques et dans la plasticité du tissu adipeux en lien avec l'inflammation. Afin de déterminer le rôle spécifique de E2f1 dans les cellules myéloïdes sur la sécrétion et la sensibilité à l'insuline, des souris LysM Cre::E2f1fl/fl et leurs contrôles seront soumises à un régime riche en gras. Des tests métaboliques seront réalisés afin d'évaluer le métabolisme glucidique. Un immunophénotypage complet par cytométrie en flux des populations leucocytaires recrutées dans les îlots et au niveau des tissus adipeux sera réalisé. Des analyses fonctionnelles ex vivo et les cytokines secrétées dans les milieux conditionnés d'explants de tissu adipeux et d'îlots isolés seront analysées en utilisant la technologie Luminex. Nous espérons ainsi, au travers de ce projet, identifier de nouvelles cibles afin de développer des stratégies thérapeutiques dans le traitement de l'obésité et du DT2.

Titre : **Etude de la reprogrammation épitranscriptomique des cellules β pancréatiques par une approche d'inactivation génique ou d'inhibition pharmacologique.**

Tuteur : **Jean-Sébastien ANNICOTTE** – INSERM UMR1167 RID-AGE – Faculté de Médecine-Pôle Recherche- 1 place de Verdun- Lille – +33.(0)3.20.97.42.54 – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr

Les cellules β pancréatiques, considérées comme le capteur des niveaux de glucose circulants, contrôlent la sécrétion d'insuline par un processus finement régulé. Des dysfonctionnements de ce type cellulaire, associés à une diminution du nombre des cellules β , sont à l'origine de pathologies métaboliques comme le diabète de type 2. Des études récentes ont montré une plasticité de ces cellules entraînant une perte de leur fonction associée au développement du diabète de type 2. Nos résultats semblent démontrer que des modifications réversibles de l'ARN, appelées épitranscriptome, associées à des modifications de l'activité d'enzymes modifiant la biochimie des ARNs, pourraient jouer un rôle clé dans cette reprogrammation cellulaire. Le but de ce projet de master 2 sera d'étudier les mécanismes épitranscriptomiques impliqués dans la plasticité des cellules β pancréatiques en utilisant des stratégies in vitro, basées notamment sur l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques d'enzymes impliquées dans les modifications de l'ARN. Ces données permettront de mieux comprendre les mécanismes de dysfonctionnement des cellules β au cours du développement du diabète et proposer la reprogrammation de l'épitranscriptome comme une nouvelle piste pour l'étude des mécanismes physiopathologiques impliqués dans le diabète de type 2.

Titre : **Evaluation des dysfonctions cardiaques induites par le diabète de type 2 dans un modèle de cardiomyocytes humains dérivé de cellules souches humaines pluripotentes induites.**

Tutrice : **Florence PINET** – INSERM UMR1167 RID-AGE – Institut Pasteur de Lille - 1 rue du Professeur Calmette - Lille– +33 (0)3 20 87 72 15 – florence.pinet@pasteur-lille.fr

Le diabète de type 2 (DT2), la dyslipidémie ou l'obésité sont les principaux facteurs de risque cardiovasculaires et représentent un enjeu majeur de santé publique car ils sont associés à une mortalité et une morbidité importantes. La coexistence de ces troubles, appelée syndrome métabolique, est associée à une hypertrophie du ventricule gauche et à une dysfonction diastolique, qui peut conduire au développement d'une insuffisance cardiaque (IC). Néanmoins, les mécanismes à l'origine de l'IC et la plasticité cardiaque au cours du DT2 restent peu connus. En conditions pathologiques, comme lors du DT2, l'altération du métabolisme énergétique est un facteur clé de la dysfonction cardiaque en induisant, notamment, une lipotoxicité, une glucotoxicité, une plasticité cellulaire et une dysfonction mitochondriale. Le projet de master aura pour objectif d'évaluer la fonction cardiaque dans des conditions de stress lipotoxique dans un modèle de cellules souches pluripotentes induites différenciées en cardiomyocytes (hiPSc-CMs). Plus spécifiquement, après avoir caractérisé ce modèle préclinique humain de cardiomyocytes dérivés de hiPSC, nous souhaitons évaluer la fonction mitochondriale en condition de gluco-lipotoxicité, identifier les mécanismes impliqués et évaluer l'effet cardioprotecteur d'agents pharmacologiques anti-oxydants dans ces hiPSc-CMs. Ces résultats permettront une meilleure compréhension de ces pathologies et d'identifier de nouvelles approches thérapeutiques.

Titre : 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, bd du Pr Leclercq, Lille - 03 20 97 42 11 – 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.

Sujet : Rôle du récepteur nucléaire ROR alpha dans l'adipocyte et l'homéostasie métabolique

Tutrice : **Delphine EBERLE** – UMR1011 – Institut Pasteur de Lille, rue Calmette, Lille – 03.20.87.71.25 – delphine.eberle@univ-lille.fr

L'obésité augmente fortement le risque de développer des pathologies métaboliques, cardiovasculaires et cancéreuses. Face à l'épidémie d'obésité dans le monde, il est urgent de trouver de nouveaux traitements pour lutter contre ce fléau. Lors d'une obésité, le surplus d'énergie est stocké dans le tissu adipeux blanc (TAB) au niveau des adipocytes qui prolifèrent et s'hypertrophient. De façon intéressante, dans d'autres conditions bien particulières, certains adipocytes du TAB sont aussi capables d'utiliser leur stock lipidique pour produire de la chaleur (thermogénèse), et ainsi de favoriser la perte de poids dans un contexte thérapeutique. Mais les facteurs impliqués dans ces processus restent peu connus. Le récepteur nucléaire ROR alpha joue un rôle dans le métabolisme glucido-lipidique, et son expression est modulée en conditions d'obésité ou de production de chaleur. Ainsi, le but de ce projet de master 2 sera de tester le rôle de ROR α sur le fonctionnement des adipocytes dans un contexte thermogénique, en utilisant des souris déficientes pour ROR alpha dans l'adipocyte. Nous évaluerons les conséquences métaboliques, biochimiques, tissulaires et moléculaires d'une exposition au froid, et d'un challenge avec un agoniste beta3-adrénergique qui favorise la thermogénèse. Ces travaux nous permettront de définir les conséquences thermogéniques d'une modulation de ROR alpha dans l'adipocyte ainsi que sa pertinence en tant que cible thérapeutique pour traiter l'obésité et le DT2.

Project title: **Impact of glucocorticoids on islet function: role of SRD5A1 as a modulator of glucocorticoids bioavailability**

Tutor: **Stéphanie ESPIARD** - Translational Research Laboratory for Diabetes, INSERM UMR1190, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - 03 20 62 69 63 - stephanie.espiard@univ-lille.fr

Glucocorticoids (GCs) play a pivotal role in regulating physiological processes, including glucose and lipid homeostasis. Overexposure to GCs, whether through endogenous cortisol excess or synthetic GC treatments, results in metabolic complications, notably diabetes. The metabolism of GCs within metabolic tissues is crucial in regulating their bioavailability, with the HSD11B1 and SRD5A1 enzymes playing critical roles. Interestingly, in obesity, a state of tissular cortisol overexposure contributing to the onset of metabolic complications has been described. While HSD11B1 has been extensively studied, clinical trials targeting this enzyme have yielded limited benefits. In contrast, SRD5A1's involvement in obesity-induced metabolic complications remains underexplored. Interestingly, recent animal models and human studies suggest that inhibiting SRD5A1 increases the risk of developing metabolic complications, including diabetes. We also postulate that enhancing SRD5A1 activity could mitigate the metabolic dysfunctions associated with excessive GCs exposure, as seen in obesity and synthetic GC therapy.

The master's student project will focus on pancreatic beta-cell function. The aim would be to study, using human islets, the consequences of SRD5A1 overexpression on glucose-stimulated insulin secretion after treatment by GCs. All the experiments necessary for this project are mastered and routinely used in the lab.

Parcours Oncologie fondamentale et clinique

Sujet : Étude du métabolisme et de la résistance des leucémies myéloïdes à localisation extramédullaire : modélisation par utilisation de la bioimpression

Tuteur : **Nicolas Germain**, ONCOLILLE Laboratoire Canther UMR 9020 CNRS-UMR1277, INSERM, équipe Leukemia. nicolas.germain@chu-lille.fr

La localisation extramédullaire (EM) des leucémies aiguës myéloïdes est souvent associée à un mauvais pronostic chez 5% à 30% des patients. La niche EM fournit un environnement protecteur qui peut modifier le métabolisme des leucémies les protégeant du stress et des chimiothérapies. Après chimiothérapie, les blastes EM adoptent un état sénescence, surexprimant le marqueur de surface CD36. Le projet vise à comprendre les mécanismes sous-jacents qui contribuent à la résistance des leucémies myéloïdes EM. Le projet s'articule autour de l'utilisation innovante de la bioimpression 3D. Cette approche vise à reproduire l'environnement extracellulaire, notamment adipocytaire, des leucémies myéloïdes EM pour mieux comprendre leur métabolisme et les mécanismes de résistance.

Le projet se déroulera en plusieurs phases, incluant (i) la conception et la bioimpression de modèles de leucémies EM ; (ii) l'analyse métabolique (métabolisme OXPHOS, hypoxie), cellulaire (senescence, mort cellulaire, migration, résistance) et moléculaire (RT-QPCR, génomique) des cellules imprimées (lignées humaines et blastes de patients) pour identifier les voies de résistance et l'évaluation de l'efficacité de nouveaux agents thérapeutiques dans ces modèles.

La modélisation des conditions spécifiques dans lesquelles ces cellules prospèrent et résistent aux traitements, devrait permettre d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et développer des traitements plus efficaces.

Sujet: Implication de la voie HBP et des processus de O-GlcNAcylation dans la fibrose associée au cancer pulmonaire.

Tutrice : **Vanessa DEHENNAUT**, CANTHER (Cancer Heterogeneity, Plasticity and Resistance to Therapies), UMR 9020-U1277, Institut ONCOLille, Bd du Pr Jules Leclerc, Lille - 03 20 96 52 76 - vanessa.dehennaut@univ-lille.fr

La fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) est une maladie pulmonaire progressive d'étiologie inconnue et de pronostic sombre, avec une espérance de vie inférieure à 5 ans. Elle se caractérise en partie par le dépôt excessif et le remodelage de la matrice extracellulaire (MEC) via l'accumulation et l'activation persistante de myofibroblastes en réponse au TGFβ dans le contexte d'une lésion de l'épithélium alvéolaire. Les patients atteints de FPI courent un risque accru de développer un cancer du poumon, ce risque étant cinq fois plus élevé que dans la population générale. Plusieurs études ont suggéré que les zones fibrotiques représentent un microenvironnement pro-tumoral. La prise en charge de ces cancers s'avère délicate puisque la chirurgie, la radiothérapie et les chimiothérapies provoquent une exacerbation de la fibrose assombrissant davantage le pronostic. Aussi, l'identification de mécanismes moléculaires communs à la fibrogenèse et à la carcinogenèse pourrait ouvrir la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant les deux pathologies. Dans ce contexte, de nombreuses études ont montré que les myofibroblastes partageaient plusieurs caractéristiques des cellules cancéreuses dont la reprogrammation du métabolisme énergétique. Pour autant, aucune d'entre elles ne s'est penchée sur l'éventuelle implication de la voie de biosynthèse des hexosamines (HBP) dans la fibrose associée au cancer pulmonaire. Cette voie métabolique fournit l'UDP-GlcNAc, substrat de l'OGT, enzyme catalysant la O-GlcNAcylation, une modification post-traductionnelle dont l'augmentation aberrante est une caractéristique commune et une cible thérapeutique potentielle de nombreux cancers dont le cancer pulmonaire. Nos premiers résultats montrent qu'une augmentation de l'expression de plusieurs enzymes de la voie HBP et des niveaux de O-GlcNAcylation font partie de la signature de la différenciation des fibroblastes pulmonaires humains normaux MRC5 en myofibroblastes en réponse au TGFβ. Les objectifs de ce stage de Master 2 Recherche seront (i) d'identifier les voies de signalisation à l'origine de cette augmentation des enzymes de la voie HBP et de la O-GlcNAcylation (ii) à étudier l'impact d'une modulation de l'activité de la voie HBP et de la O-GlcNAcylation sur la transdifférenciation des fibroblastes MRC5 en myofibroblastes.

Titre : Caractérisation de l'impact de la mutation H3.3K27M sur la radiosensibilité des cellules des GITC

Tuteur : **Samuel MEIGNAN**, UMR-CANTHER équipe plasticité, 03 20 29 59 59, s-meignan@o-lambret.fr

Les gliomes infiltrants du tronc cérébral (GITC) sont des tumeurs cérébrales pédiatriques au pronostic des plus sombres. En effet, leur exérèse chirurgicale complète est impossible, et les traitements pharmacologiques se révèlent jusqu'ici inefficaces à leur rencontre. Dans ce contexte, la radiothérapie demeure le seul traitement de référence, bien qu'à visée surtout palliative. En 2012, les mutations monoalléliques H3K27M ont été découvertes avec une fréquence d'environ 80% dans les GITC. À ce jour, le rôle driver de la mutation H3.3K27M dans la genèse des DMG n'est plus à démontrer, cependant son rôle dans la résistance aux traitements reste peu documenté. Dans ce contexte, le laboratoire a entrepris l'établissement de modèles cellulaires de GITC knock-out pour cette mutation. Sur la base de ces modèles, le projet de M2 proposé vise à évaluer l'impact précis de la mutation H3.3K27M sur la radiosensibilité des cellules de GITC par la réalisation de tests comparatifs de clonogénicité, de tests comète, de détections en immunofluorescence et westernblot et d'études de la mort cellulaire radioinduite sur nos modèles cellulaires isogéniques traités ou non par irradiation +/- agents pharmacologiques.

Titre : Rôle de la O-GlcNAcylation dans la réponse du cancer colorectal à la chimiothérapie FOLFOX

Tutrice : **Ikram EL YAZIDI** – Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR CNRS 8576, Université de Lille, Cité scientifique, 59655 Villeneuve d'Ascq– 0320336499 – ikram.el-yazidi@univ-lille.fr

Le FOLFOX est administré comme chimiothérapie dans le traitement du cancer colorectal (CCR) avancé et métastatique. Une étude clinique établit une corrélation entre la mortalité par CCR au stade III, la récurrence après traitement au 5-FU (un des deux médicaments du FOLFOX) et un régime riche en glucides. D'autres études montrent un lien entre cette récurrence et les désordres métaboliques. La O-GlcNAcylation des protéines est une modification post-traductionnelle senseur de l'état nutritionnel. Elle est augmentée dans les CCR et les désordres métaboliques. Afin d'appréhender la chimiorésistance au FOLFOX, dans un contexte normal ou physiopathologique de diabète et d'obésité, nous proposons de décrypter les relations moléculaires entre cette glycosylation simple qu'est la O-GlcNAcylation et les mécanismes de cette résistance.

Le projet a pour but d'identifier les acteurs régulés par O-GlcNAcylation et impliqués dans la réponse au FOLFOX par des études transcriptomiques et glyco-protéomiques. Ces recherches seront menées sur des cellules normales ou cancéreuses coliques humaines, sensibles ou résistantes au FOLFOX et des tissus tumoraux. Pour tous les groupes de cellules, traités ou non avec des régulateurs de la O-GlcNAcylation en présence ou non de FOLFOX, des quantifications d'ARNm par Q-PCR en temps réel pour les acteurs impliqués dans la réponse à cette chimiothérapie seront réalisées. De même, les taux et la distribution subcellulaire des protéines correspondantes et les niveaux de O-GlcNAcylation seront analysés par Western-blot et immunohistochimie. La confrontation des résultats obtenus in vitro et sur tissus contribuera à la compréhension du rôle de la O-GlcNAcylation dans les mécanismes de résistance du cancer colorectal au FOLFOX.

Titre : Intérêt du ciblage thérapeutique de la mucine MUC4 dans les cancers épithéliaux en tant que plate-forme d'interaction avec les récepteurs à tyrosine kinase. Caractérisation des interactions dans l'adénocarcinome pancréatique.

Tutrice : **Isabelle VAN SEUNINGEN** – Laboratoire CANTHER/UMR9020 CNRS-U1277 Inserm-CHU Lille-Université de Lille/Equipe « Mucines, cancer et résistance aux drogues », Boulevard du Professeur Jules Leclercq, bâtiment ONCOLille, 59000 LILLE, tél : 0631529030, mail : isabelle.vanseuningen@inserm.fr

Le cancer du pancréas est un cancer mortel pour lequel aucun diagnostic n'existe et pour lequel les thérapies actuelles restent peu voire pas efficaces. Ceci est le plus souvent dû à une grande résistance de la tumeur pancréatique aux traitements. Il est donc impératif pour ce cancer dévastateur de trouver de nouvelles pistes thérapeutiques. Dans ce cadre, nous travaillons sur l'interaction de la mucine MUC4 avec les récepteurs oncogéniques de type RTK (c-Met, Axl, IGF-RI et EpCAM). Le projet, qui est la suite de nos travaux sur l'interaction de MUC4 avec ErbB2 pour laquelle des petites molécules inhibitrices sont en cours d'évaluation, vise à aller plus loin dans la compréhension du rôle de MUC4 comme plateforme d'interaction à la surface des cellules cancéreuses. Au cours du Master 2, nous voulons confirmer nos résultats préliminaires sur l'interaction MUC4-RTK dans un modèle d'organoïde pancréatique disponible au laboratoire. Cette partie impliquera de la biochimie (co-immunoprécipitation, western-blotting) et de la biologie cellulaire (proximity ligation assay). Nous évaluerons ensuite le potentiel de différentes combinaisons thérapeutiques faites de petites molécules inhibitrices développées au laboratoire et de drogues disponibles sur le marché, qui auront été criblées au préalable dans des lignées pancréatiques. Cette partie impliquera de la biochimie (WB) et de l'imagerie cellulaire (immunofluorescence).

Parcours : oncologie fondamentale et clinique

Titre : Développement d'approches thérapeutiques de maladies génétiques causées par des mutations non-sens

Tuteur : **Fabrice LEJEUNE** – U1277 Inserm/UMR9020 CNRS – Oncolille -
Tel : 0320965271 – E-mail : fabrice.lejeune@inserm.fr

Les mutations non-sens sont responsables d'environ 10% des cas de maladies génétiques qu'elles soient rares comme la mucoviscidose ou fréquentes comme le cancer. Il n'existe aucun traitement pour corriger ces mutations qui sont parmi les plus impactantes puisqu'elles conduisent très généralement à l'absence d'expression du gène.

Au sein de l'Institut Oncolille dans l'équipe Approches thérapeutiques moléculaires des maladies génétiques et du cancer, l'étudiant(e) développera un projet visant à caractériser de nouvelles molécules correctrices de mutations non-sens.

Le projet consistera à étudier l'impact d'une ou plusieurs molécules correctrices de mutations non-sens sur des cellules immortalisées en culture et porteuses d'une mutation non-sens endogène. L'analyse de l'expression du gène se fera au niveau ARNm par RT-PCR et au niveau protéique par Western-blot. Le mode d'action de ces molécules pourra être entrepris par des moyens de microscopie et de colonnes d'affinité menant à des études exploratoires.

Ce projet aura pour but de préparer un sujet de thèse visant à développer une nouvelle approche thérapeutique correctrice de mutations non-sens in vitro et in vivo.

L'étudiant(e) devra être sérieux(se), motivé(e) par le sujet, et avec de bonnes connaissances des aspects moléculaires de l'expression génique.

Titre : Implication du complexe WASH dans l'adressage des formes activées du récepteur MET dans le cancer du poumon

Tuteur : **David TULASNE** - OncoLille Cancer Institute, UMR 9020 CNRS, U1277 Inserm, Université de Lille. Team Efficacy & Resistance to anti-tumor targeted Therapies - david.tulasne@inserm.fr

Les premières thérapies ciblées dirigées contre le récepteur MET viennent d'être approuvées pour traiter des patients atteints d'un cancer du poumon porteurs de mutations sur le récepteur. Ces mutations touchent des sites épissages conduisant au saut de l'exon 14 (METex14Del) et à la perte d'un domaine régulateur, dont les fonctions sont encore peu connues. Or, les thérapies ciblant MET ne sont efficaces que sur la moitié de ces patients. Une compréhension fine des mécanismes conduisant à l'activation de METex14Del est donc requise pour améliorer ces traitements.

Nous avons démontré par des expériences de biotinylation de proximité en cellules vivantes que METex14Del interagit avec le complexe WASH impliqué dans le recyclage des protéines membranaires. Nous faisons l'hypothèse que l'activation accrue de METex14Del conduisant à une invasion cellulaire plus importante et à la tumorigenèse, soit la conséquence d'un recyclage plus important du récepteur vers la membrane au dépend de sa dégradation.

Le projet de Master 2 Recherche consistera à déterminer si le recyclage de METex14Del vers la membrane plasmique est exacerbé par rapport au récepteur sauvage. La localisation subcellulaire de MET sera déterminé en Immunofluorescence avec des co-marquages des vésicules intracellulaires dont les vésicules de recyclages exprimant le complexe WASH. L'extinction de l'expression des membres du complexe WASH sera mise au point par siRNA dans le but de réaliser à terme des approches fonctionnelles permettant de déterminer si le recyclage de METex14Del a pour conséquence l'activation plus forte et prolongée des voies de signalisation et des réponses cellulaires.

A terme, ce projet pourrait avoir des conséquences sur le traitement des patients présentant des mutations de MET par exemple par l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques parmi les acteurs de la machinerie d'internalisation et d'adressage des récepteurs membranaires.

Titre : Etude des mécanismes d'action d'un nouveau composé organométallique sur la prolifération cellulaire.

Tuteur : **Alain MARTORIATI**, UGSF-UMR 8576, équipe Régulation du développement précoce, Cité scientifique, Bat SN3, 59655 Villeneuve d'Ascq. 0320336020 ; alain.martoriati@univ-lille.fr

Les endommagements de l'ADN conduisent classiquement à un arrêt du cycle cellulaire associé aux processus de réparation ou à la mort cellulaire si les dommages sont trop sévères. Dans cette optique, certaines stratégies anti-cancéreuses consistent à casser l'ADN des cellules afin d'induire leur mort. C'est le cas des molécules inhibitrices des topoisomérases qui font l'objet de très nombreuses études. Parmi ces inhibiteurs, se trouvent de nouveaux composés organométalliques (à IC 50 très faible), de type indénoisoquinoline, actuellement en développement à l'ENSCL dans le groupe du Prof L Pelinski. Au laboratoire, nous avons montré que l'ajout d'un atome de cuivre à l'indénoisoquinoléine (WN197) permet de provoquer un arrêt de la prolifération en phase G2 du cycle cellulaire sur de nombreuses lignées d'adénocarcinomes (sein, utérus, colon). Une thèse a permis de préciser les mécanismes moléculaires impliqués ainsi que le type de mort cellulaire induit. Récemment, ce composé a été testé sur des cellules cancéreuses de poumon (A549) qui ont montré une sensibilité identique aux 3 autres lignées à la molécule malgré une réponse cellulaire différente. Préciser le mode d'action de WN197 sur cette nouvelle lignée sera l'objet de ce stage de Master 2. Le candidat(e) retenu(e) vérifiera dans un premier temps par immunofluorescence que le composé induit aussi des cassures dans l'ADN sur cette lignée. Parallèlement, il s'agira de préciser l'arrêt des cellules dans le cycle par des expériences de cytométrie en flux. Enfin, par des expériences d'immunoempreintes, le candidat analysera l'activité des kinases et phosphatases Erk2, Cdc25, Cdk1, régulatrices du cycle, en évaluant la quantité et l'état de phosphorylation et de glycosylation de ces effecteurs. Le type de mort cellulaire sera déterminé par l'analyse de différents marqueurs (caspase 3 clivée, PARP, p53, Beclin, p62). Ces études permettront de déterminer le mécanisme spécifique de notre molécule sur cette lignée dans la perspective de l'élaboration d'une pharmacologie plus ciblée. En parallèle, des tests de WN197 sur des organoïdes de colon et de pancréas sont également envisagés. Il s'agira d'évaluer l'efficacité de la molécule en systèmes plus complexes que la culture 2D.

Titre : Rôles de la protéine canal ORAI3 dans la progression tumorale prostatique.

Tuteur : **Fabien VANDEN ABEELE** - Laboratoire de Physiologie Cellulaire (PHYCEL INSERM U-1003) : canaux ioniques, inflammation et cancer. Équipe 1 Rôle des canaux ioniques dans l'initiation et la progression tumorale. - fabien.vanden-abeele@inserm.fr

Ces dernières années le laboratoire a mis en évidence différentes perturbations des canaux calciques, telles que leur activité ou bien leur expression, dans la progression du cancer (Prevarskaya et al., 2018, 2010). Parmi ces canaux calciques mis en évidence, un membre de la famille des ORAI (1-2 et 3) a retenu notre attention. L'équipe a montré que l'ARN messager codant pour la protéine ORAI3 est augmenté dans les formes avancées du cancer de la prostate (CPa) et que la protéine ORAI3 forme un canal calcique hétéromérique avec ORAI1 qui favorise la prolifération cellulaire ainsi que la résistance à la mort des cellules cancéreuses prostatiques (DUBOIS et al., 2014). Des résultats non publiés montrent que ce canal calcique ORAI1/3 peut également contribuer à d'autres caractéristiques des cellules cancéreuses (angiogenèse tumorale notamment) en fonction du microenvironnement tumorale. Les objectifs du stage seront de mettre en évidence les voies cellulaires impliquées in vitro (plusieurs modèles sont disponibles au laboratoire et caractérisés par protéomique) et in vivo (souris KO CRISPER/CAS9). Les techniques employées seront les suivantes : culture cellulaire, biologie cellulaire (western blot, co-immunoprécipitation), biologie moléculaire (Q-PCR), OMICS ou encore l'imagerie calcique. Selon l'avancée du projet, préparation d'échantillons (cellules/tissus) obtenus à partir du modèle in vivo pour des études OMICS, d'immunofluorescence et de RNAScope. L'équipe 1 se situe sur le campus cité scientifique. L'environnement est international, un plus pour perfectionner son anglais indispensable en science.

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

Tutor: **Anna Rita CANTELMO**. U1011 - Récepteurs Nucléaires, Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires, Institut Pasteur de Lille, Rue du Professeur Calmette, Lille. 03 20 33 70 78
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.

Titre: Influence de l'enzyme lysophosphatidylcholine acyltransférase 2 sur la résistance à la chimiothérapie induite par une toxine bactérienne.

Tutrice: **Nilmara DE OLIVEIRA ALVES BRITO** - PhyCell U1003 Equipe 2 - Bâtiment ONCOLille. nilmara.de-oliveira-alves-brito@inserm.fr

Malgré d'importantes avancées thérapeutiques, le cancer colorectal (CCR) reste la deuxième cause principale de décès par cancer au niveau mondial. Récemment, notre équipe a mis en lumière que chez les patients atteints d'un cancer du côlon droit, la résistance aux traitements chimiothérapeutiques sont associées à la présence de souches d'*Escherichia coli* productrices de Colibactine, nommées CoPEC. Ces bactéries ont la capacité de coloniser des niches tumorales spécifiques, créant un microenvironnement peu immunogène et riche en glycérophospholipides. L'infection par CoPEC conduit également à une accumulation de gouttelettes lipidiques dans les cellules tumorales MC38 et HCT116, et est caractérisée par une augmentation du stress oxydant. De manière intéressante, nous avons constaté une augmentation de l'expression de l'enzyme lysophosphatidylcholine acyltransférase 2 (*lpcat2*), essentielle dans la synthèse de la phosphatidylcholine et impliquée dans la résistance aux chimiothérapies.

Hypothèse. Une perturbation des voies de biosynthèse de la phosphatidylcholine serait responsable de chimiorésistance suite à une colonisation par CoPEC.

Description. Ce projet vise à explorer le rôle de LPCAT2 dans le contexte de l'infection par CoPEC, en utilisant des lignées cellulaires de carcinome du côlon contrôle (CT26) et également que surexprime LPCAT2 (CT26-*lpcat2*). Les objectifs spécifiques comprennent: (i) l'évaluation du stress oxydant et de la production de superoxyde mitochondrial, (ii) l'analyse de l'activation de la mort cellulaire immunogène, et (iii) l'investigation du rôle de LPCAT2 dans l'induction de la transition épithéliale-mésenchymateuse, un processus pouvant contribuer à la résistance aux chimiothérapies. Les résultats issus de ce projet pourraient éclaircir la séquence d'événements par laquelle la Colibactine assombrit le pronostic en favorisant la chimiorésistance.

Mots-clés: cancer colorectal, Colibactine, LPCAT2, stress oxydatif et transition épithéliale-mésenchymateuse.

Title: Testing in Microfluidics (colon-on-a-chip) the impact of bacteria-host interactions on the human intestinal regulatory T cell pathogenicity

Supervisor: **Franck HOUSSEAU**, Visiting Professor - PhyCell U1003 Team 2 – ONCOLille Building - fhousse1@jhmi.edu

Background. The mucosal immune cells derived from the interactions of pathobionts such as enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) with the intestinal barrier may promote dysplasia and modulate the efficacy of immunotherapies. However, human investigations are limited by the absence of models mimicking human physiology. We plan therefore to use microfluidics (colon-on-a-chip) to test how ETBF interact with human colonic epithelial cells and subsequently impact the properties of immune cells from the same patient.

Hypothesis. Based on our preliminary data (Geis et al. *Cancer Discov* 2016; Destefano-Shields et al *Cancer Discov* 2021), we postulate that interaction between ETBF and hCEC generate inflammatory signaling driving the differentiation of pathogenic regulatory T cells (Treg) responsible for epithelial dysplasia (carcinogenesis) and suppression of the tumor immunosurveillance (therapy resistance). Microfluidics devices will allow to identify in a human set up the epithelial inflammatory signaling and metabolism affecting human Treg.

Goals. Human intestinal barrier and vessels biomimetics will allow us to explore bacterial toxin-triggered intraepithelial signaling and metabolic pathways shaping the pathogenicity of mucosal Treg. Transcriptomics (RNA seq), metabolomics, proteomics (immunofluorescence) and epigenetics (ATAC seq) approaches will be used.

Impact. Detection and characterization of immunometabolic signatures in blood and tumor may provide biomarkers of resistance to treatment, which can guide the prognostic and medical decision.

Key-words: Colorectal cancer, Immunotherapies, Microfluidics, Pathobionts, Toxins.

Title: **Study of inflammasome-dependent mechanisms in chemotherapy-induced neuropathies.**

Supervisor: **Lionel POULIN** - PhyCell U1003 Equipe 2 - Bâtiment ONCOLille - lionel.poulin@cncrs.fr

Background. Chemotherapy treatments, such as Folfirinox and Palcitaxel, are generally accompanied by serious side effects that limit their use. In particular, chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN) is characterized by allodynia or thermal (particularly cold) and mechanical hyperalgesia in up to 80% of patients.

Hypothesis. Activation of inflammasome in macrophages that are located in the dorsal root ganglia (DRG) are thought to be involved in the development of CIPN through the secretion of interleukin-1 beta.

Goals. Single-cell transcriptomics data will be available to define the type of macrophages in which inflammasome activation may promote the development of CIPN as well as the type of neurons that are responsive to IL-1beta and IL-18. This work will involve the use of different tools including cell lines and transgenic animals together with techniques such as cytometry, cell culture, ELISA, Westernblot, histology and others.

Impact. This project, funded by the Ligue contre le Cancer, brings together several partners with complementary expertise.

Key-words: Allodynia, Chemotherapy, Inflammasome, Macrophages.

Titre: **Evaluation d'une nouvelle cible thérapeutique potentielle dans la Leucémie Aiguë Myéloïde.**

Tutrice: **Marie-Hélène DAVID-CORDONNIER**. INSERM UMR-S1277 – CNRS UMR 9020 CANTHER, Equipe « Facteurs de Persistance des Cellules Leucémiques » – IRCL, Place de Verdun, Lille. 03 20 96 52 44 - marie-helene.david@inserm.fr

La leucémie aiguë myéloïde (LAM) est la leucémie la plus fréquente de l'adulte. Elle est caractérisée par un blocage de la différenciation en cellules hématopoïétiques matures. Son traitement repose encore principalement sur des chimiothérapies conventionnelles avec de nombreuses rechutes et un impact sur le pronostic vital du patient. Très peu de thérapies ciblées sont utilisées en clinique dans la LAM mais celles ré-induisant la différenciation hématopoïétique ont connu une percée toute récente dans seulement ~15% des LAM. La recherche de nouvelles cibles associées au blocage de la différenciation ou de la mort des cellules leucémiques et la détermination de leur mode d'action sont primordiaux pour espérer des progrès thérapeutiques.

Le projet de M2R portera sur l'évaluation d'une nouvelle cible potentielle identifiées par analyse bioinformatique sur larges cohortes de profils d'expression des gènes de patients atteints de LAM en lien avec leur profil de survie. Les différents objectifs seront la validation de lentivirus exprimant des shRNA dirigés contre la cible ou exprimant la cible elle-même, et l'évaluation des effets de l'inactivation de la cible par shRNA ou surexpression par transduction lentivirale sur (1) la survie cellulaire, (2) les processus de mort, (3) la différenciation cellulaire, (4) la suivi d'implantation de la leucémie induite dans des souris immuno-déficientes.

Les méthodologies mises en œuvre seront: culture cellulaire, infections lentivirales, qRT-PCR, cytométrie en flux, études in vivo.

Title: Characterization of a tandem duplication involved in a constitutional epimutation of the MLH1 gene using long-read sequencing and induced pluripotent stem cells

Tutrice : **Julie LECLERC** - Laboratoire CANTHER (Hétérogénéité, Plasticité et Résistance des Cancers aux Thérapies), UMR9020 CNRS – U1277 Inserm – Université de Lille – CHU de Lille - julie.leclerc@inserm.fr
julie.leclerc@chu-lille.fr

Constitutional epimutations of the MLH1 gene are an alternative mechanism to genetic mutations in the etiology of Lynch syndrome, a cancer predisposition syndrome. Patients with this epigenetic alteration exhibit hypermethylation of the MLH1 promoter. The precise molecular mechanisms underlying this hypermethylation remain poorly understood. While initially considered to be non-transmissible to offspring due to the erasure of epigenetic marks in germ cells, cases of intergenerational transmission have been documented, often linked to the presence of a genetic event in cis (secondary epimutations). We identified specific genetic variants segregating with the hypermethylation in families with secondary epimutations, including a tandem duplication spanning 29.5 kb (Leclerc et al., Genetics in Medicine 2018). The aim of the project is to further characterize this duplication using innovative strategies. (1) Long-read Nanopore sequencing will be used to simultaneously analyze the genetic sequence and methylation profile across the MLH1 gene. This analysis may be complemented by Optical Genome Mapping using Bionano technology. (2) Induced pluripotent stem cells (iPSCs) have been generated from differentiated cells of a patient carrying the 29.5 kb duplication, thus creating a cellular model of this epimutation. These iPSCs will be used to characterize molecular mechanisms involved in hypermethylation, and to test demethylating therapies (epigenome editing). Additionally, they will be differentiated into organoids for further study.

Key words: epigenetics; oncogenetics; induced pluripotent stem cells; organoids; long-read sequencing.

Titre: Capturer l'action en direct: étude dynamique des interactions moléculaires MET-gangliosides par microscopie dynamique en molécules uniques.

Tutrice: **Sophie GROUX-DEGROOTE**. UGSF, UMR CNRS 8576, Université de Lille, Bât C9 - 03 20 43 70 44 - sophie.groux-degroote@univ-lille.fr

Les gangliosides complexes jouent un rôle clé dans les capacités prolifératives et métastatiques des cellules du cancer du sein. Nos études antérieures ont mis en évidence le rôle joué par le ganglioside GD2 dans l'activation de MET et dans l'acquisition des capacités prolifératives des cellules cancéreuses mammaires (Cazet et al. 2012). Cependant, dans ces études, les outils et techniques utilisés ne permettaient pas de discriminer le GD2 du GD2-O-acétylé (OAcGD2), un autre ganglioside qui suscite depuis peu un intérêt comme marqueur et cible thérapeutique dans la cancer du sein (Cavdarli et al., 2019, 2020). Afin de déterminer les rôles respectifs du GD2 vs OAcGD2 dans l'activation de MET dans des cellules cancéreuses mammaires, nous développons un projet en collaboration avec les Prs Ando et Suzuki (Gifu University, Japon), basé sur l'utilisation de sondes glycolipidiques fluorescentes (Suzuki., 2018). Ces analogues fluorescents de gangliosides agissent de manière similaire à leurs molécules parentales, permettent de réaliser de l'imagerie de molécules fluorescentes uniques, de révéler comment les sondes de gangliosides entrent et sortent dynamiquement des rafts, et de caractériser leurs interactions avec le récepteur MET. L'étude des interactions gangliosides/MET nécessite d'établir dans un premier temps des lignées cellulaires modèles : l'objectif de ce projet de M2 est donc de générer des lignées cancéreuses mammaires transfectées stablement avec des plasmides codant MET ou METexon14 avec une étiquette Halo-7 qui permettra de déterminer par des techniques d'imagerie cellulaire classique la localisation de MET et METexon14, et leur comportement dynamique dans les cellules cancéreuses mammaires, en particulier leurs interactions avec les radeaux lipidiques. METexon14 correspond à un variant de MET retrouvé dans certains cancers, avec des mutations des sites d'épissage de l'exon 14 qui entraînent la perte d'une partie du récepteur MET et la suppression de plusieurs sites de régulation négative. Ces études seront effectuées par microscopie confocale et par vidéomicroscopie en collaboration avec la plateforme BICeL. Les résultats attendus permettront de documenter à l'échelle moléculaire la localisation et les paramètres dynamiques de MET et METexon14, indispensable à la conduite de notre projet visant à étudier leurs interactions avec les sondes gangliosiques.

Titre: Validation fonctionnelle de master régulateurs impliqués dans la formation de métastases cérébrales

Tutrice: **Xuefen LE BOURHIS**, Institut OncoLille, Laboratoire CANTHER, UMR9020 CNRS - U1277 Inserm, Equipe « Plasticité Cellulaire et Cancer ». xuefen.le-bourhis@univ-lille.fr

Environ 30-40 % de cancer du sein triple négatif (TNBC) forment des métastases cérébrales dont la survie médiane des patientes n'excède pas 5 mois. Afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires favorisant la formation des métastases, nous avons injecté des cellules TNBC chez les souris, et nous avons observé que les cellules tumorales disséminées (DTC) pouvaient extravaser des vaisseaux sanguins pour envahir le parenchyme cérébral ou rester adhérentes à l'endothélium des micro capillaires du cerveau. L'analyse (en cours) des profils transcriptomiques des différentes DTC (adhérentes à l'endothélium, extravasées dans le parenchyme cérébral, quiescentes ou prolifératives) devrait nous permettre d'identifier des réseaux de régulateurs majeurs impliqués dans la formation de métastases cérébrales. Dans ce contexte, le (la) candidat(e) sera en charge d'invalider fonctionnellement les cibles identifiées les plus prometteuses en utilisant des inhibiteurs pharmaceutiques et/ou des shRNA. Les cellules TNBC ainsi traitées et /ou modifiées seront analysées sur leurs capacités d'adhérence à l'endothélium et leurs capacités d'extravasation en utilisant le modèle de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Les capacités des cellules à envahir le parenchyme cérébral et à y proliférer seront également analysées dans un modèle ex vivo de culture en tranche de cerveau de souris.

Title: Characterization of calcium pathways involving TRPM2 channel in therapy resistance of breast cancer cells

Supervisor: **Dimitra GKIKA** - CANTHER « Hétérogénéité, plasticité et résistance aux thérapies des cancers », UMR 9020 CNRS – UMR 1277 Inserm, Équipe « Plasticité cellulaire et Cancer » - dimitra.gkika@univ-lille.fr

Ion channels have recently emerged as crucial players in the process of carcinogenesis, presenting themselves as promising therapeutic targets. In our laboratory, we have established the expression profile of TRP channels in triple negative cells after chemo- and radiotherapy treatment and identified TRPM2 as a channel increasing cell viability. The objective of this Master's internship will be to understand how the TRPM2 channel influences cell persistence, focusing particularly on their ability to adapt to chemo- and radiotherapy treatments, thereby contributing to their aggressive nature. Specifically, the candidate student will characterize the calcium signaling pathways promoting the cell viability of persistent cells.

Parcours Immunité, Inflammation et Infection

Sujet : Compétition bactérienne dans le tractus pulmonaire mucoviscidique

Tuteur : **Rodrigue DESSEIN**, Inserm U1019, CNRS UMR9017, Université de Lille, CHU, Center for Infection & Immunity of Lille - Team Opportunist Infection, Immunity, Environment & Lung Diseases, 1 place de Verdun, Lille. +33 (0)3 20 62 69 52. Rodrigue.DESSEIN@chu-lille.fr

La mucoviscidose est une maladie génétique héréditaire liée à une anomalie du gène codant pour la protéine CFTR (pour cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Cette maladie se caractérise par des sécrétions anormalement visqueuses au niveau de plusieurs organes, dont principalement les poumons et le pancréas. La viscosité accrue du mucus crée un environnement favorable à la pullulation de microorganismes qui participent à la détérioration de la fonction pulmonaire et peuvent être responsables de surinfections pulmonaires. Ainsi, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, et *Burkholderia cepacia* sont les principales espèces bactériennes responsables de la majorité des infections chez les patients souffrant de mucoviscidose.

L'hypothèse actuelle est que la compétition bactérienne au sein des communautés polymicrobiennes associées à l'hôte peut façonner leur composition avec des conséquences sur la détérioration pulmonaire et/ou l'émergence d'infections respiratoires. En effet, il peut exister des interactions synergiques ou antagonistes entre les bactéries au sein des communautés polymicrobiennes qui peut augmenter la colonisation, la virulence ou la persistance de certain ou de tous.

L'objectif du Master 2 R sera de modéliser la compétition bactérienne qui s'établit entre des bactéries emblématiques isolées de poumons de patients souffrant de mucoviscidose et d'évaluer l'implication d'un certain nombre de facteurs de virulence connu dans cette compétition.

Sujet: Infection néonatale à *Streptococcus agalactiae* et barrière mucoale intestinale

Tutrice: **Catherine ROBBE MASSELOT** – Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle – 50 avenue de Halley – tél : 0362531738, Fax : 0320436555 – catherine.robbe-masselot@univ-lille.fr

Streptococcus agalactiae (SGB) est la principale bactérie responsable des infections néonatales graves. Il existe deux syndromes cliniques: l'infection précoce (INP), qui survient entre le 1er et le 7ème jour de vie, est due à une transmission maternelle lors de l'accouchement alors que l'infection tardive (INT) survient entre 7 et 89 jours après la naissance. Alors que l'INP peut être prévenue par antibioprofylaxie pendant l'accouchement, il n'existe aucun moyen de prévention contre l'INT. Le mécanisme physiopathologique des INT est encore mal connu même si des données cliniques suggèrent une colonisation intestinale néonatale précoce suivie d'une translocation digestive tardive, conduisant à une septicémie fréquemment associée à une méningite. Les mucines, glycoprotéines de très haut poids moléculaire et très fortement glycosylées, constituent la première barrière de défense de l'organisme contre les infections bactériennes. Même si les gènes codant les mucines sont exprimés dès le stade fœtal, la maturité de la barrière mucoale ne débute qu'après la naissance. Notre hypothèse est que cette maturité est soit altérée, soit retardée, chez les nourrissons colonisés; conduisant à l'émergence de O-glycanes « immatures » qui favoriseraient l'adhésion de la bactérie à la muqueuse intestinale puis sa colonisation intestinale. Les objectifs de ce projet seront donc de comparer le profil d'expression et de glycosylation des mucines intestinales de nourrissons colonisés ou non afin d'identifier de potentiels ligands glycaniques pour la bactérie et de décrypter les facteurs permettant à SGB de coloniser et d'infecter l'intestin des nouveau-nés. Ces travaux seront réalisés en collaboration avec l'Institut Cochin de Paris (Dr Asmaa TAZI), responsable de la cohorte d'échantillons de selles de nouveau-nés infectés ou non et de la sélection de mutants de SGB capables d'adhérer aux mucines. Les analyses du profil de O-glycosylation des mucines seront réalisées par spectrométrie de masse. Les altérations de sécrétion et d'expression des mucines seront mises en évidence par microscopie confocale sur coupes de tissus ou selles fixés en paraffine. Les perspectives de ce projet de recherche seront à terme de proposer une stratégie alternative prophylactique préventive pour lutter contre ces infections néonatales.

Title: **Understanding the mechanisms governing virulence of the tachyzoite proliferative form of *Toxoplasma gondii***

Supervisor: **Mathieu GISSOT**. Centre d'Infection et d'Immunité de Lille. Institut Pasteur de Lille. 1, rue du Pr. Calmette. 59000 Lille.
mathieu.gissot@pasteur-lille.fr

Toxoplasma gondii is a unicellular eukaryote of the Apicomplexa phylum, which contains many deadly protozoan parasites such as Plasmodium (the cause of malaria) and Cryptosporidium (responsible for cryptosporidiosis). *T. gondii* is of critical importance to pregnant women, with first-time infections having the potential to cause severe illness and even death in the developing fetus. Paramount to the adaptability of *T. gondii* is its complex life cycle, which is characterized by multiple differentiation steps that are essential for its survival in both the human and definitive feline host. However, the molecular mechanisms controlling proliferation are still unknown. Our goal is to understand the mechanisms governing virulence of the tachyzoite proliferative form, a step being the most relevant for pathogenesis in humans. We identified a transcription factor that may be crucial for the parasite survival and proliferation. Specifically, this protein may regulate the formation of daughter cells during the tachyzoite cell cycle. We aim at understanding the role of this regulator in the control of the parasite proliferation. For that, we will use reverse genetics, transcriptomics and proteomics to decipher the biological role of this transcription factor.

Titre : **Rôle du RAGE (receptor for advanced glycation end products) et du complément dans le vieillissement vasculaire rénal**

Tutrices : **Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL**, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr

L'incidence croissante de l'insuffisance rénale chronique et la durée de vie insuffisante des greffons rénaux soulignent l'enjeu majeur du vieillissement rénal, dont le processus est médié par le développement de lésions vasculaires. Les preuves du rôle du récepteur des produits de glycation avancée (RAGE) dans les processus de vieillissement rénal s'accumulent, cependant les mécanismes moléculaires doivent être clarifiés. Dans ce projet, nous émettons l'hypothèse que le RAGE et son activation par divers ligands, y compris certaines protéines du complément, peuvent participer au vieillissement vasculaire rénal. Les réponses cellulaires à l'activation de RAGE impliquent l'expression de molécules pro-inflammatoires, oxydantes, adhérentes, apoptotiques, angiogéniques et profibrotiques, autant de mécanismes dont on pense qu'ils participent activement à la sénescence rénale. L'activation excessive du complément, un système essentiel de l'immunité innée, a déjà été impliquée dans diverses pathologies vasculaires liées au vieillissement. En outre, le rein est particulièrement sensible au complément. Pour décrypter la relation entre RAGE et le système du complément, l'apport d'un modèle cellulaire sera particulièrement intéressant. Nous avons deux hypothèses principales : 1- certaines protéines du complément lient RAGE et pourraient ainsi moduler ses fonctions ; 2- l'activation de RAGE pourrait avoir un impact sur le complosome intracellulaire, et ainsi participer au dysfonctionnement mitochondrial qui en découle. Pour étudier ces hypothèses dans le contexte du vieillissement vasculaire, nous utiliserons un modèle cellulaire de sénescence répllicative ainsi qu'un modèle de sénescence prématurée induite par un stress (LPS) appliqué aux cellules endothéliales humaines. Les HUVEC (cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine) seront cultivées à long terme pour induire une sénescence répllicative, et nous appliquerons ce modèle aux cellules endothéliales glomérulaires (GEC) pour nous concentrer davantage sur le vieillissement vasculaire dans le rein. Nous mesurerons d'abord les marqueurs de sénescence ainsi que la persistance de marqueurs endothéliaux spécifiques à différents passages. Nous comparerons ensuite les cellules endothéliales jeunes (passage précoce, P3-P5), intermédiaires (P9-P13) et vieilles (passage tardif > P15), en nous concentrant particulièrement sur l'expression de RAGE, par IF et cytométrie de flux, l'activation extracellulaire du complément (dépôts de C3c et C5b9 par IF et cytométrie de flux ; C3a, C5a et C5b9 soluble par ELISA), l'expression des gènes des protéines du complément, et les fonctions mitochondriales.

Titre: Rôle de l'altération du glycocalyx par l'hème et du système du complément dans les lésions endothéliales du syndrome hémolytique et urémique atypique

Tutrices : **Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL**, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr

L'identification, chez plus de 50% des patients, de mutations des protéines régulant le complément suggère une implication forte de ce système dans les lésions endothéliales du syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa). Ces mutations ne constituent, cependant, que des facteurs de susceptibilité et les mécanismes menant de l'activation dérégulée du complément à une microangiopathie thrombotique (MAT) rénale restent mal compris. Parmi les acteurs peu caractérisés, susceptibles de moduler la réponse au complément à la surface de l'endothélium figure le glycocalyx. Recouvrant les cellules endothéliales, cette structure riche en héparanes-sulfates (HS) participe en effet à lier le facteur H (FH), principal régulateur de la voie alterne du complément. Nos données actuelles issues d'une cohorte monocentrique de patients MAT suggèrent une association entre SHU, altération des HS et activation tissulaire du complément. Nos données récentes montrent que l'hémolyse est associée à une dégradation des HS et à une activation locale du complément in vivo sur des biopsies rénales de patients MAT et in vitro dans des cellules endothéliales primaires. Dans le cadre de ce projet, nous utiliserons 2 modèles cellulaires endothéliaux : HUVEC (cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine, régulièrement isolées dans notre laboratoire) et GEC (cellules endothéliales glomérulaires), en situation statique et dynamique (chambre de flux), pour étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la modulation du glycocalyx par l'hème et dans la modulation de l'activation du système du complément (stimulation/inhibition pharmacologique, transfection de siRNA). Le rôle des différentes voies et différents acteurs du système du complément sera également évalué (sérum déplété). L'amélioration des connaissances de la physiopathologie et des facteurs de susceptibilité du SHUa pourrait permettre d'envisager de nouvelles stratégies préventives et thérapeutiques. Ainsi, la préservation de l'intégrité du glycocalyx endothélial pourrait être une piste thérapeutique pour le contrôle des MAT.

Titre: Évaluation des conséquences rénales à long terme d'un sepsis sévère dans un modèle murin

Tutrices : **Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL**, laboratoire : U1167 RID-AGE, équipe 5 - marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr

Le sepsis sévère s'accompagne dans plus de 50% des cas d'une défaillance rénale. Les conséquences fonctionnelles rénales à long terme sont mal caractérisées, mais il a été récemment décrit une sur-incidence d'insuffisance rénale chronique dans cette population. Les mécanismes de cette insuffisance rénale chronique à distance d'un sepsis, susceptible de s'apparenter à un vieillissement accéléré, restent mal compris et il n'existe actuellement pas d'approche pharmacologique permettant d'en améliorer le pronostic. Ce projet vise ainsi à caractériser dans un modèle murin les conséquences rénales à long terme d'un sepsis et à mieux comprendre les mécanismes et voies de signalisation impliqués dans la survenue d'une insuffisance rénale chronique (vieillissement rénal accéléré). Le modèle murin est d'ores et déjà en place au sein du laboratoire (Pierre A. *et al.* Biology 2023) et consiste en l'induction d'une péritonite par injection intrapéritonéale de selles hétérologues suivi d'une « réanimation » active à partir de la 12^{ème} heure (antibiothérapie, hydratation, analgésique) dans le but de se rapprocher de la prise en charge clinique chez l'humain. Dans le cadre de ce modèle, des reins ont été collectés à 10 jours et 3 mois (M3) post-sepsis évaluant les conséquences moyen et long-terme respectivement. Ce projet se consacrera à l'étude des reins prélevés chez les souris survivantes à M3, en termes de structure (colorations histologiques), ainsi qu'au niveau moléculaire avec une approche transcriptomique sans a priori dans un premier temps (RNA-seq) puis ciblée sur les voies modulées dans le contexte de vieillissement accéléré du sepsis (QuantiGene, RT-qPCR). Nous nous intéresserons également à l'activité mitochondriale, à l'inflammaging, aux marqueurs de souffrance rénale et de sénescence cellulaire (par marquage IHC ou IF, dosage ELISA, WB, spectrophotométrie...). Par ailleurs, la fonction rénale de souris survivantes sera également évaluée à M3 long terme, par évaluation non-invasive du débit de filtration glomérulaire (DFG) grâce à un dispositif transdermique et par dosage biochimique de la créatinine et de l'urée plasmatique.

Matériels et méthodes: Sur souris : évaluation du DFG par dispositif transdermique ; Sur échantillons murins : Immunohistochimie, Immunofluorescence, ELISA, WB, RT-PCR, QuantiGene, RNA-seq (sous traité)

Titre : Interactions endothélium - cellules immunes dans la stéatohépatite associée au métabolisme.

Tuteurs : **Anna-Rita CANTELMO, David DOMBROWICZ**. UMR 1011. Institut Pasteur de Lille, rue du Pr Calmette. Lille. 0320877967.

anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr ; david.dombrowicz@pasteur-lille.fr

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.

Titre : Étude des interactions cellulaires de l'éosinophile dans la dermatite atopique.

Tuteurs : **Delphine STAUMONT-SALLÉ, Stéphane ESNAULT**. University of Lille, INSERM, CHU Lille, U1286 - INFINITE - Institute for Translational Research in Inflammation, Lille. delphine.salle@chu-lille.fr ; stephane.esnault@univ-lille.fr

Introduction: Les interactions de l'éosinophile (Eos) avec les cellules présentes dans son environnement tissulaire sont probablement impliquées dans l'induction et la polarisation (de type Th2 principalement) de la réponse inflammatoire au cours de la dermatite atopique (DA) et dans le remodelage tissulaire, comme dans l'asthme ou l'œsophagite à éosinophiles. Nous disposons de données préliminaires concernant un certain nombre de médiateurs produits par l'Eos en conditions basales (IL-18 et TWEAK, TNF-like weak inducer of apoptosis) et en conditions stimulées (IL-1 β et γ , Oncostatine M, TGF (Transforming Growth Factor)- β et α). Ces médiateurs pourraient être impliqués dans les interactions entre les Eos et les cellules de l'inflammation dans la DA.

Objectifs: Notre objectif principal est d'étudier les interactions cellulaires de l'Eos avec les cellules identifiées dans son environnement dans la peau, en condition basale et en condition inflammatoire de type Th2, en particulier avec les kératinocytes et les fibroblastes.

Méthodes: Notre étude se basera sur la mise en place de co-cultures d'Eos non activés ou activés par les cytokines de la famille de l'interleukine (IL)-5 (IL-5, IL-3 et GM-CSF) et les cellules d'intérêt (fibroblastes et kératinocytes). Nous aurons 2 approches, le dépôt des surnageants d'Eos activés sur des cultures de kératinocytes ou de fibroblastes, et la réalisation de co-cultures Eos/kératinocyte ou fibroblaste en transwell. Nous mesurerons la production des médiateurs d'intérêt sus-cités libérés par les Eos dans ces deux modèles de culture et nous identifierons les médiateurs qui sont capables d'activer les cellules cibles par l'utilisation d'anticorps neutralisants.

Résultats attendus: L'objectif à long terme est la meilleure compréhension du rôle de l'Eos dans la DA et notamment dans le remodelage tissulaire cutané via ses interactions avec les kératinocytes et les fibroblastes et l'identification de cibles thérapeutiques potentielles liées directement à l'Eos ou indirectement par ses interactions avec les cellules de son environnement.

Titre: Rôle des régimes hyper-glucidiques dans la réponse anti-infectieuse des cellules myéloïdes

Encadrant: **Pukar KC** - PhyCell U1003 Equipe 2 - Bâtiment ONCOLille.
pukar.kc@inserm.fr

Contexte. Les régimes hyper-glucidiques sont responsables de la survenue de plusieurs pathologies tels que le diabète et les maladies cardiovasculaires. Les patients atteints présentent également un risque plus élevé aux infections. Les cellules myéloïdes, activées lors d'infections, jouent un rôle central en produisant des cytokines et ainsi orchestrant l'éradication du pathogène.

Hypothèse de travail. Un régime hyper-glucidique modulerait la capacité des cellules myéloïdes altérant à coordonner la réponse immunitaire anti-infectieuse.

Description. L'objectif de ce projet est d'explorer l'impact des régimes hyper-glucidiques sur la réponse des cellules myéloïdes à un modèles d'infection bactérienne et de septicémie, en utilisant des approches in vitro, ex vivo et in vivo. L'étudiant(e) sera chargé(e) dans un premier temps d'étudier l'impact de différentes sources glucidiques sur la différenciation et la fonction des lignées cellulaires de cellules myéloïdes (THP-1, RAW 264.7) et/ou de culture primaire de cellules myéloïdes isolées de la moelle osseuse (BMDM) de souris transgéniques. Pour cela l'étudiant(e) évaluera ensuite la différenciation de ces cellules en monocytes et macrophages et leurs phénotypes par cytométrie en flux, la réponse inflammatoire par un dosage de cytokines telles que IL-1beta, IL-6 et IL-10 et une analyse transcriptomique par qRT-PCR et protéomique par Western Blot. Enfin, les mécanismes moléculaires impliqués l'inflammation postprandiale seront identifiés avec une approche de mutagenèse pour établir la causalité.

Retombées du projet. Ce projet vise à identifier de nouveaux biomarqueurs pour la résistance postprandiale aux infections dans un contexte de diabète et de maladies cardiovasculaires et à concevoir de nouvelles interventions thérapeutiques.

Titre: Impact de l'exposition de souris gestantes aux particules atmosphériques ultrafines sur l'immunité Intestinale et pulmonaire de la descendance dans un modèle d'asthme

Tutrices: **Cécile VIGNAL / Patricia de NADAI** – U1286, Institute for Translational Research in Inflammation (INFINITE). Faculté de Médecine, Pôle Recherche. 0320974233, cecile.vignal2@univ-lille.fr / U1019, Centre d'Infection et d'immunité de Lille (CIIL), Institut Pasteur de Lille, Bât. Emile Roux. 0320877183, patricia.de-nadai@pasteur-lille.fr

Il existe un dialogue entre les organes notamment entre l'intestin et le poumon par le biais des cellules immunes et du microbiote. Les perturbations précoces du microbiome intestinal sont impliquées dans le développement de l'asthme chez l'enfant. La pollution est un facteur important dans le développement et l'aggravation des maladies chroniques aussi bien intestinales que pulmonaires. Chez la mère gestante, les particules atmosphériques ultrafines inhalées peuvent traverser la barrière alvéolo-capillaire et entraîner des dysfonctions d'organe chez le fœtus. Une étude a montré que l'exposition prénatale à la pollution atmosphérique urbaine induit des altérations précoces, dépendantes du sexe, du développement intestinal et immunitaire chez la souris. Dans cette étude, nous intéressons à l'impact d'une exposition aux particules ultrafines in utero sur l'axe intestin/poumon dans un modèle d'asthme chez les descendants. L'inflammation pulmonaire et intestinale sera évaluée ainsi que le microbiote intestinal chez les souris exposées ou non in utero aux particules ultrafines et sensibilisées ou non à l'allergène d'acarien.

Titre: **Rôle des motifs de trafic intracellulaire de la protéine spike du SARS-CoV-2 dans la morphogenèse virale**

Tutrice: **Sandrine BELOUZARD**, Equipe virologie moléculaire et cellulaire, CIIL. 03 20 87 10 27 -sandrine.belouzard@ibl.cnrs.fr

Les coronavirus sont des virus enveloppés. L'enveloppe contient trois protéines virales : la protéine spike (S), la protéine de membrane M et la petite protéine d'enveloppe E. L'assemblage des nouveaux virus se déroulent au niveau du compartiment intermédiaire entre le reticulum endoplasmique et le Golgi (ERGIC). La protéine M est considérée comme le moteur de la morphogenèse virale. Elle engendre des interactions avec toutes les autres protéines structurales et la co-expression des protéines M et E est suffisante pour induire la formation de particules subvirales (VLP). Lorsqu'elle est co-exprimée, la protéine spike est incorporée dans ces VLPs. Un criblage protéomique a permis de montrer que la protéine S interagit avec les machineries de transport antérograde (vésicules COPII) et rétrograde (vésicules COPI) (Cattin-Ortolà et al. Nat Comm. 2021). Des motifs impliqués dans la liaison de COPI et COPII ont été identifiés mais leur contribution pour l'assemblage de nouveaux virions n'a pas été évaluée. Dans ce projet, nous souhaitons évaluer le rôle de ces motifs pour l'interaction avec la protéine M et l'incorporation de la protéine dans le virus en utilisant le modèle VLP. Nous étudierons aussi le rôle de ces signaux pour la maturation protéolytique de la protéine spike.

Titre: **Effets de la contamination alimentaire par les microplastiques sur la santé intestinale**

Tutrice: **Mathilde BODY-MALAPEL** – INFINITE U1286, Faculté de Médecine Pôle Recherche. 03 20 97 42 33 – mathilde.body@univ-lille.fr

Les microplastiques (MP) peuvent soit être fabriqués intentionnellement, soit provenir de la fragmentation de plastiques plus larges. Ils sont ubiquitaires (environnement, air, eaux). A ce jour, les MP ont été détectés dans l'eau, la nourriture, et plusieurs tissus humains comme le sang, le placenta, le côlon.... Chez les patients atteints de maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI), les taux de MP dans les selles sont corrélés à la sévérité de la maladie. Des études sur les souris ont montré que certains MP entraînent des dommages intestinaux, mais ces études sont réalisées à partir de MP modèles étudiés individuellement et ne reflétant qu'une partie de l'exposition humaine aux MP. Le projet consistera à étudier les effets intestinaux de cocktails de MP représentatifs de ceux contaminant la nourriture humaine, en conditions saines et dans un modèle murin de MICI. Des souris seront exposées à une nourriture contaminée par un cocktail de MP de façon subchronique puis les effets intestinaux seront évalués soit en conditions saines, soit dans le modèle de colite induite par administration de dextran sodium sulfate. Les paramètres majeurs de l'homéostasie intestinale seront étudiés tels que la fonction barrière, la réponse immunitaire (immunophénotypage par cytométrie en flux, quantification des cytokines et chimiokines inflammatoires majeures, analyses histologiques et immunohistochimiques), et la dysbiose intestinale (séquençage 16S).

Ce projet permettra de mieux comprendre comment la contamination alimentaire par les MP peut favoriser le développement de l'inflammation intestinale.

Title: Improving tuberculosis treatment by targeting the host

Supervisor: **Priscille BRODIN**. Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR 8204 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille - priscille.brodin@inserm.fr

Tuberculosis (TB) remains a pressing public health challenge, exacerbated by the absence of an effective vaccine and the emergence of antibiotic-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis (Mtb). Infection with Mtb typically results in chronic pulmonary disease, characterized by severe lung inflammation and pathology. The standard treatment for TB involves a 6-month regimen of four antibiotics, but this duration can extend to up to 2 years with more aggressive therapies for drug-resistant strains, particularly in cases with advanced pathology. Urgent action is needed to develop innovative strategies that not only limit the emergence of resistant strains but also address the complex needs of patients with advanced disease.

Recent advancements have highlighted the potential of host-targeted therapies as complementary approaches to conventional antibiotic treatments. In this context, the focus is on identifying drugs that can enhance the efficacy of antibiotics within the specific environment of Mtb-infected macrophages. High-content screening (HCS) imaging techniques will be employed to precisely quantify antibacterial activity. The candidate will receive comprehensive training in various methodologies, including cell culture techniques, infection experiments, management of compound libraries targeting eukaryotic cells, confocal microscopy procedures, automated image analysis, and the evaluation of synergistic effects resulting from combinations of chemical compounds.

Titre: Caractérisation moléculaire et cellulaire de sous-clones leucémiques génétiquement définis

Tutrice: **Carine BRINSTER**. OncoLille, CANTHER, CNRS UMR 9020, INSERM UMR1277, Bd Prof Jules Leclercq, LILLE - (33) 3 20 96 52 27-carine.brinster@inserm.fr

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) se caractérisent par un blocage de différenciation et une prolifération accrue des précurseurs hématopoïétiques (blastes) de différentes lignées granulocytaire, monocytaire, érythrocytaire ou plaquettaire. Elles peuvent être associées à l'existence d'anomalies génétiques (gènes de fusion et mutations) et présente une grande hétérogénéité. Nous disposons, au laboratoire, d'une lignée leucémique murine témoignant de la même diversité. Sa caractérisation génétique (aberrations génomiques et mutations) nous a permis de distinguer différents sous-clones aux propriétés intrinsèques diverses. L'objectif de ce projet sera de mieux caractériser au niveau moléculaire (expressions géniques par RT-qPCR) et cellulaire (marquages en cytométrie en flux) les différents sous-clones.

Titre: Défaut du compartiment hépatocytaire dans le foie d'hépatite liée à l'alcool et interactions avec les cellules non parenchymateuses

Tuteur: **Laurent DUBUQUOY**. Infinite, U1286, Faculté de Médecine, pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - laurent.dubuquoy@inserm.fr

L'hépatite liée à l'alcool (AH) est la forme la plus grave de la maladie du foie liée à l'alcool. Elle se caractérise par une progression rapide de la fibrose. Lors d'une étude en cours, utilisant des données omiques obtenues auprès de patients lillois (TargetOH, NCT03773887, PI : Ph. Mathurin) et des approches plus analytiques, nous avons démontré que les foies AH sont caractérisés par un profil de fibrose intralobulaire spécifique (localisation et composition). En développant un modèle original de coculture 3D d'organoïdes hépatiques et de myofibroblastes humains, nous avons démontré que la surexpression de YAP dans des hépatocytes altérés est impliquée dans l'activation et la prolifération des myofibroblastes voisins, révélatrice d'un dialogue entre les hépatocytes et son environnement cellulaire. Au cours du stage de master 2, nous caractériserons davantage les facteurs solubles et membranaires responsables de cette communication pathologique. L'hétérogénéité des myofibroblastes sera résolue en utilisant l'analyse scRNA-Seq du compartiment cellulaire mésenchymateux des foies AH. Les données préliminaires identifient déjà plusieurs sous-populations cellulaires potentiellement impliquées dans la fibrogenèse spécifique de l'AH. L'un d'eux est caractérisé par une expression élevée de F2R (gène codant pour la protéine PAR1) parmi d'autres marqueurs endothéliaux. Les expériences IHC ont confirmé une expression élevée de PAR1 dans la fibrose intralobulaire du foie AH. Pour déchiffrer davantage les mécanismes cellulaires impliqués, nous utiliserons des modèles ex vivo que nous avons récemment développés, tels que la co-culture d'organoïdes 3D ou la culture de tranches épaisses de foie et des modulateurs PAR1.

Parcours Santé de Précision

Title: **The molecular clock in liver fibrosis**

Mentor: **Philippe LEFEBVRE**, U. Lille, UMR Inserm 1011. E-mail : philippe-claude.lefebvre@inserm.fr

Laboratory background: Our laboratory has a longstanding interest in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and liver fibrosis. We identified altered signaling pathways in humans which may be causal in disease progression (see references below).

Scientific background: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a spectrum of liver dysfunctions detected in its mildest form as the build-up of excess fat in the liver. Intimately linked to obesity and type 2 diabetes, the disease progresses within years towards an inflammatory state (NASH) and eventually induces liver fibrosis, a detrimental excess of extracellular matrix deposition that strongly impacts physical and functional properties of this organ. The major contributors in the fibrogenic response to liver damage are hepatic stellate cells (HSCs). During NASH, HSCs undergo a critical 'activation' process characterized notably by massive extracellular matrix component production.

Project: The circadian clock (CC) is critical in establishing cellular and tissular homeostasis. Timed by zeitgebers such as light and food intake, organs exhibit cyclic expression of CC mRNA transcripts and of proteins which adjust cellular activities to external cues. Our preliminary data suggest that components of the molecular clock participates into HSC activation. This project will investigate further this relationship.

M2 Objectives: Upon completion of his/her training in an environment fostering scientific interactions, the candidate is expected to master basic cellular and molecular biology techniques and essential analysis tools, to be able to apprehend the general purpose of his/her research project, and to acquire written and oral presentation skills.

Key references: Johanns M. et al. (2023) JHEP Rep., 6(1) 100948; Berthier A. et al. (2018) PNAS, 115, E11033-E11042; Bobowski-Gerard M. et al. (2022) Nat. Comm. 13.-33063-9; Lefebvre P. et al. (2017) JCI Insight 2, e92264; Vandel J. et al. (2021) Hepatology 73, 920-936.

Titre : **Rôle de la O-GlcNAcylation dans la réponse du cancer colorectal à la chimiothérapie FOLFOX**

Tutrice : **Ikram EL YAZIDI** – Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR CNRS 8576, Université de Lille, Cité scientifique, 59655 Villeneuve d'Ascq – 0320336499 – ikram.el-yazidi@univ-lille.fr

Le FOLFOX est administré comme chimiothérapie dans le traitement du cancer colorectal (CCR) avancé et métastatique. Une étude clinique établit une corrélation entre la mortalité par CCR au stade III, la récurrence après traitement au 5-FU (un des deux médicaments du FOLFOX) et un régime riche en glucides. D'autres études montrent un lien entre cette récurrence et les désordres métaboliques. La O-GlcNAcylation des protéines est une modification post-traductionnelle senseur de l'état nutritionnel. Elle est augmentée dans les CCR et les désordres métaboliques. Afin d'appréhender la chimiorésistance au FOLFOX, dans un contexte normal ou physiopathologique de diabète et d'obésité, nous proposons de décrypter les relations moléculaires entre cette glycosylation simple qu'est la O-GlcNAcylation et les mécanismes de cette résistance.

Le projet a pour but d'identifier les acteurs régulés par O-GlcNAcylation et impliqués dans la réponse au FOLFOX par des études transcriptomiques et glyco-protéomiques. Ces recherches seront menées sur des cellules normales ou cancéreuses coliques humaines, sensibles ou résistantes au FOLFOX et des tissus tumoraux. Pour tous les groupes de cellules, traités ou non avec des régulateurs de la O-GlcNAcylation en présence ou non de FOLFOX, des quantifications d'ARNm par Q-PCR en temps réel pour les acteurs impliqués dans la réponse à cette chimiothérapie seront réalisées. De même, les taux et la distribution subcellulaire des protéines correspondantes et les niveaux de O-GlcNAcylation seront analysés par Western-blot et immunohistochimie. La confrontation des résultats obtenus in vitro et sur tissus contribuera à la compréhension du rôle de la O-GlcNAcylation dans les mécanismes de résistance du cancer colorectal au FOLFOX.

Titre : 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, Lille. 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.

Titre : Développement d'approches thérapeutiques de maladies génétiques causées par des mutations non-sens

Tuteur : **Fabrice LEJEUNE** – U1277 Inserm/UMR9020 CNRS – Oncolille (Tel : 0320965271 – E-mail : fabrice.lejeune@inserm.fr)

Les mutations non-sens sont responsables d'environ 10% des cas de maladies génétiques qu'elles soient rares comme la mucoviscidose ou fréquentes comme le cancer. Il n'existe aucun traitement pour corriger ces mutations qui sont parmi les plus impactantes puisqu'elles conduisent très généralement à l'absence d'expression du gène.

Au sein de l'Institut Oncolille dans l'équipe Approches thérapeutiques moléculaires des maladies génétiques et du cancer, l'étudiant(e) développera un projet visant à caractériser de nouvelles molécules correctrices de mutations non-sens.

Le projet consistera à étudier l'impact d'une ou plusieurs molécules correctrices de mutations non-sens sur des cellules immortalisées en culture et porteuses d'une mutation non-sens endogène. L'analyse de l'expression du gène se fera au niveau ARNm par RT-PCR et au niveau protéique par Western-blot. Le mode d'action de ces molécules pourra être entrepris par des moyens de microscopie et de colonnes d'affinité menant à des études exploratoires.

Ce projet aura pour but de préparer un sujet de thèse visant à développer une nouvelle approche thérapeutique correctrice de mutations non-sens *in vitro* et *in vivo*.

L'étudiant(e) devra être sérieux(se), motivé(e) par le sujet, et avec de bonnes connaissances des aspects moléculaires de l'expression génique.

Sujet : Study of the unfolding protein response (UPR) and glycosylation profile in the brain and plasma of PeRinatal Stress (PRS) model rats and after chronic alcohol consumption as a function of sex differences.

Tutrice : **Stefania MACCARI**, GlycoStress Team, UGSF, UMR 8576 CNRS, « Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle » Bât C9 Université de Lille – Campus Scientifique, Villeneuve d'Ascq - stefania.maccari@univ-lille.fr

During pregnancy, stress can affect fetal development via the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA), also leading to reduced maternal care and, consequently, potential dysregulation of fetal brain development and altered expression profiles of many proteins in PeRinatal Stress model (PRS) rats. This could be due to an alteration in the initiation, pruning and elongation mechanisms of N-glycans, which can potentially lead to an unfolded protein response (UPR). No studies have demonstrated a link between altered N-glycan profiling and UPR in adult male and female PRS rats. Our preliminary studies showed an alteration in N-glycan profiles that was partially restored with antidepressant treatment. In particular, an increase in sialylation was observed in the hippocampus of adult male PRS rats. Microarray analysis revealed dysregulation of gene expression, for example of ATF6, which plays a role in UPR, or of CREB3L4, involved in the stress response and apoptosis. Several studies have also established a link between excessive alcohol consumption and deficiencies in N-glycosylation. In this context, the working hypothesis of the M2 project is that PRS and alcohol consumption would impact on the ER N-glycosylation pathway, potentially inducing chronic cellular ER stress. This, in turn, may disrupt the cellular balance of the UPR resulting in neuroreceptors with erroneous glycosylation patterns in rats suffering from PRS and/or alcohol-related conditions. The ultimate goal of this M2 proposal is to pharmacologically target glycosylation to mitigate the effects of PRS on alcohol consumption.

Experimental Protocol. Young-adult male and female rats will be used. The half of rats will be submitted to the PRS protocol and the other half part will be unstressed controls. The same-sex rats are pair housed (2 rats/cage) in their home cages before the start of alcohol intake at adolescence postnatal days (PND), during alcohol consumption rats will be individually housed. We use an alcohol intermittent administration adapted from the Kabbaj alcohol protocol and Dong et al. (2022). We will dispose of 4 groups of rats for males and females, respectively, (CONT/Water, CONT/Alcohol, PRS/Water and PRS/Alcohol for both sexes). Behavioral analysis will be provided as well as tissue (brain, plasma/serum) collection for biochemical, molecular and glycomic analysis.

Projet : Modélisation in vitro des interactions neurones-astrocytes dans le contexte de la maladie d'Alzheimer

Tutrice : **Sophie HALLIEZ**, Alzheimer & Tauopathies, UMR-S 1172, LiNCog, Lille. 03 20 29 75 53 - sophie.halliez@inserm.fr

La maladie d'Alzheimer (MA) est une protéinopathie neurodégénérative caractérisée par l'accumulation anormale de deux types d'agrégats protéiques au niveau du cerveau : des dépôts amyloïdes extracellulaires et des dégénérescences neurofibrillaires majoritairement constituées de protéine tau anormale. Les travaux de recherche actuels focalisent principalement sur le mode de propagation de ces protéines et sur la perte synaptique et neuronale qui en découle. Mais il est de plus en plus évident que les astrocytes jouent un rôle important dans le développement de la MA et que d'autres anomalies cellulaires sont présentes dans le cerveau des patients, dont la surexpression du récepteur A2A de l'adénosine par les astrocytes et les neurones.

Notre objectif est d'explorer les interactions neurones-astrocytes par le prisme de la surexpression pathologique du récepteur A2A par les astrocytes dans le contexte de la MA. Pour cela, nous reconstituerons et caractériserons des synapses tripartites via un modèle de chambre microfluidique montée sur microelectrode array. Dans ce système, nous induirons la surexpression du récepteur A2A spécifiquement dans les astrocytes en présence ou non de tau anormale et nous en évaluerons les effets sur la connectivité et sur la fonction astrocytaire.

Titre : Rôle du RAGE (receptor for advanced glycation end products) et du complément dans le vieillissement vasculaire rénal

Tutrices : **Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL**, U1167 RID-AGE, équipe 5 (Pr Éric Boulanger) marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr

L'incidence croissante de l'insuffisance rénale chronique et la durée de vie insuffisante des greffons rénaux soulignent l'enjeu majeur du vieillissement rénal, dont le processus est médié par le développement de lésions vasculaires. Les preuves du rôle du récepteur des produits de glycation avancée (RAGE) dans les processus de vieillissement rénal s'accumulent, cependant les mécanismes moléculaires doivent être clarifiés. Dans ce projet, nous émettons l'hypothèse que le RAGE et son activation par divers ligands, y compris certaines protéines du complément, peuvent participer au vieillissement vasculaire rénal. Les réponses cellulaires à l'activation de RAGE impliquent l'expression de molécules pro-inflammatoires, oxydantes, adhérentes, apoptotiques, angiogéniques et profibrotiques, autant de mécanismes dont on pense qu'ils participent activement à la sénescence rénale. L'activation excessive du complément, un système essentiel de l'immunité innée, a déjà été impliquée dans diverses pathologies vasculaires liées au vieillissement. En outre, le rein est particulièrement sensible au complément. Pour décrypter la relation entre RAGE et le système du complément, l'apport d'un modèle cellulaire sera particulièrement intéressant. Nous avons deux hypothèses principales : 1- certaines protéines du complément lient RAGE et pourraient ainsi moduler ses fonctions ; 2- l'activation de RAGE pourrait avoir un impact sur le complosome intracellulaire, et ainsi participer au dysfonctionnement mitochondrial qui en découle. Pour étudier ces hypothèses dans le contexte du vieillissement vasculaire, nous utiliserons un modèle cellulaire de sénescence répllicative ainsi qu'un modèle de sénescence prématurée induite par un stress (LPS) appliqué aux cellules endothéliales humaines. Les HUVEC (cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine) seront cultivées à long terme pour induire une sénescence répllicative, et nous appliquerons ce modèle aux cellules endothéliales glomérulaires (GEC) pour nous concentrer davantage sur le vieillissement vasculaire dans le rein. Nous mesurerons d'abord les marqueurs de sénescence ainsi que la persistance de marqueurs endothéliaux spécifiques à différents passages. Nous comparerons ensuite les cellules endothéliales jeunes (passage précoce, P3-P5), intermédiaires (P9-P13) et vieilles (passage tardif > P15), en nous concentrant particulièrement sur l'expression de RAGE, par IF et cytométrie de flux, l'activation extracellulaire du complément (dépôts de C3c et C5b9 par IF et cytométrie de flux ; C3a, C5a et C5b9 soluble par ELISA), l'expression des gènes des protéines du complément, et les fonctions mitochondriales.

Titre : Évaluation des conséquences rénales à long terme d'un sepsis sévère dans un modèle murin

Tutrices : **Marie FRIMAT et Sarah DUCASTEL**, laboratoire : U1167 RID-AGE, équipe 5 - marie.frimat@univ-lille.fr ; sarah.ducastel@univ-lille.fr

Le sepsis sévère s'accompagne dans plus de 50% des cas d'une défaillance rénale. Les conséquences fonctionnelles rénales à long terme sont mal caractérisées, mais il a été récemment décrit une sur-incidence d'insuffisance rénale chronique dans cette population. Les mécanismes de cette insuffisance rénale chronique à distance d'un sepsis, susceptible de s'apparenter à un vieillissement accéléré, restent mal compris et il n'existe actuellement pas d'approche pharmacologique permettant d'en améliorer le pronostic. Ce projet vise ainsi à caractériser dans un modèle murin les conséquences rénales à long terme d'un sepsis et à mieux comprendre les mécanismes et voies de signalisation impliqués dans la survenue d'une insuffisance rénale chronique (vieillissement rénal accéléré). Le modèle murin est d'ores et déjà en place au sein du laboratoire (Pierre A. *et al.* Biology 2023) et consiste en l'induction d'une péritonite par injection intrapéritonéale de selles hétérologues suivi d'une « réanimation » active à partir de la 12^{ème} heure (antibiothérapie, hydratation, analgésique) dans le but de se rapprocher de la prise en charge clinique chez l'humain. Dans le cadre de ce modèle, des reins ont été collectés à 10 jours et 3 mois (M3) post-sepsis évaluant les conséquences moyen et long-terme respectivement. Ce projet se consacrera à l'étude des reins prélevés chez les souris survivantes à M3, en termes de structure (colorations histologiques), ainsi qu'au niveau moléculaire avec une approche transcriptomique sans a priori dans un premier temps (RNA-seq) puis ciblée sur les voies modulées dans le contexte de vieillissement accéléré du sepsis (QuantiGene, RT-qPCR). Nous nous intéresserons également à l'activité mitochondriale, à l'inflammation, aux marqueurs de souffrance rénale et de sénescence cellulaire (par marquage IHC ou IF, dosage ELISA, WB, spectrophotométrie...). Par ailleurs, la fonction rénale de souris survivantes sera également évaluée à M3 long terme, par évaluation non-invasive du débit de filtration glomérulaire (DFG) grâce à un dispositif transdermique et par dosage biochimique de la créatinine et de l'urée plasmatique.

Matériels et méthodes: Sur souris : évaluation du DFG par dispositif transdermique ; Sur échantillons murins : Immunohistochimie, Immunofluorescence, ELISA, WB, RT-PCR, QuantiGene, RNA-seq (sous traité)

Titre : Interactions endothélium - cellules immunes dans la stéatohépatite associée au métabolisme.

Tuteurs : **Anna-Rita CANTELMO, David DOMBROWICZ**. UMR 1011. Institut Pasteur de Lille, rue du Pr Calmette. Lille. 0320877967.

anna-rita.cantelmo@univ-lille.fr ; david.dombrowicz@pasteur-lille.fr

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.

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

Tutrice : **Audrey HELLEBOID**. UMR 1011 « 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.

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

Tutrice : **Réjane PAUMELLE-LESTRELIN**. INSERM- UMR1011 « Nuclear receptor, metabolic and cardiovascular diseases” Laboratoire J&K-Faculté de médecine pôle recherche - Bd Pr Jules Leclerc-Lille - 03 20 97 42 09 - rejane.lestrelin@univ-lille.fr

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.

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

Supervisor : **Fanny LALLOYER**, UMR1011 (Institut Pasteur of Lille – EGID - University of Lille) - +33320877996 - 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.

Titre : Caractérisation de la O-GlcNAcylation dans les érythrocytes et le plasma de patients avec un diabète de type 1 – Lien avec l'équilibre glycémique et l'exercice

Tutrices : **Elsa HEYMAN, Caroline CIENIEWSKI-BERNARD**. URePSSS – ULR 7369, équipe Activité Physique, Muscle, Santé, Université de Lille – Tel ; 0678959955 - elsa.heyman@univ-lille ; caroline.cieniewski-bernard@univ-lille.fr

A long terme, les patients présentant un diabète de type 1 ont un risque élevé de complications vasculaires (rétinopathies, néphropathies, arrêt cardiaque...) ; causes majeures de morbidité et de mortalité, ces complications vasculaires affectent la qualité de vie des patients. En particulier, alors que l'exercice est reconnu comme bénéfique dans un grand nombre de pathologies chroniques, celui-ci pourrait au contraire avoir des conséquences délétères chez des sujets diabétiques en raison d'une dysfonction endothéliale.

Par ailleurs, la O-GlcNAcylation (O-N-acétyl- β -D-glucosaminylation) est une glycosylation atypique reconnue comme un senseur nutritionnel, dépendant notamment du taux de glucose. Cette glycosylation est impliquée dans certains dysfonctionnements du système vasculaire. De plus, des données préliminaires de notre équipe ont mis en évidence une corrélation entre O-GlcNAcylation, équilibre glycémique et capacité aérobie au niveau musculaire mais également au niveau des érythrocytes.

L'objectif de ce projet est de caractériser des changements de O-GlcNAcylation dans le plasma et les érythrocytes de sujets présentant un diabète de type 1 soumis à un exercice physique. En particulier, nous nous focaliserons sur la eNOS et le métabolisme du NO. A plus long terme, notre objectif est d'identifier des marqueurs circulants reflétant un défaut de l'homéostasie vasculaire en réponse à une hypo- ou une hyperglycémie à l'exercice.

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

Tuteur : **Jérôme ECKHOUTE** – INSERM U1011 Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Bd du Professeur Leclerc, Bâtiment J&K, Lille – 03.20.97.42.19 - jerome.eeckhoute@inserm.fr

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.

Titre : Compréhension des mécanismes de régulation du métabolisme du Dolichol sur les processus de glycosylation réticulaire

Tuteur : **François FOULQUIER**, Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR 8576 CNRS, Univ Lille - 03-20-33-72-58 - francois.foulquier@univ-lille.fr

Le dolichol est un très long lipide essentiel dans les voies de glycosylation du ER telles que la N-glycosylation, la O-/C-mannosylation et la synthèse de l'ancre GPI. Le Dolichol ancrera non seulement l'oligosaccharide qui sera transféré en bloc sur les glycoprotéines naissantes mais servira sous sa forme monophosphate de donneur de monosaccharides (Dol-P-Man et Dol-P-Glc). La disponibilité du dolichol est donc considérée comme un facteur limitant la N-glycosylation et sa régulation est absolument essentielle. Nous avons récemment découvert une toute nouvelle voie métabolique dans la synthèse du dolichol humain lorsqu'une carence conduit à une maladie rare de glycosylation appelée CDG (Wilson et al., Cell, Accepted). Cette découverte nous incite à réétudier plus en détail la synthèse du dolichol, son recyclage et sa dégradation et comment les défauts de ce métabolisme peuvent impacter les processus de glycosylation du ER. Ce projet vise à (1) décrypter les mécanismes par lesquels les défauts de synthèse du Dolichol conduisent à de fortes anomalies de glycosylation, (2) comprendre le basculement moléculaire entre la synthèse de novo et le recyclage, (3) tester la capacité des espèces polyisoprénoïdes à compenser les défauts de glycosylation observés et enfin, explorer l'interconnexion entre le cholestérol, le métabolisme du dolichol et la glycosylation. Ce projet utilisera des levures et des cellules KO isogéniques de mammifères.

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

Tutrice : **Annabelle DUPONT**, équipe 2, UMR Inserm 1011 - 03.20.44.48.45 - annabelle.dupont@univ-lille.fr

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).

Titre : Rôle du régulateur E2f1 dans les cellules immunitaires au cours de l'obésité et du diabète de type 2

Tuteur : **Jean-Sébastien ANNICOTTE** – INSERM UMR1167 RID-AGE – Faculté de Médecine-Pôle Recherche- 1 place de Verdun- Lille – +33.(0)3.20.97.42.54 – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr

Le diabète de type 2 (DT2) est une pathologie chronique qui se caractérise par une résistance à l'insuline des tissus périphériques et une perte progressive de fonction des cellules bêta pancréatiques entraînant une hyperglycémie. De nombreuses données ont démontré le rôle clé joué par des acteurs moléculaires de l'inflammation dans la résistance à l'insuline et la perte de fonction des cellules bêta pancréatiques. Le facteur de transcription E2f1, initialement décrit comme l'un des régulateurs principaux du cycle cellulaire, a une fonction importante dans le contrôle de l'homéostasie énergétique. Nous proposons dans ce projet d'étudier la contribution spécifique de E2f1 dans les macrophages dans la perte de fonction des cellules bêta pancréatiques et dans la plasticité du tissu adipeux en lien avec l'inflammation. Afin de déterminer le rôle spécifique de E2f1 dans les cellules myéloïdes sur la sécrétion et la sensibilité à l'insuline, des souris LysM Cre::E2f1^{fl/fl} et leurs contrôles seront soumises à un régime riche en gras. Des tests métaboliques seront réalisés afin d'évaluer le métabolisme glucidique. Un immunophénotypage complet par cytométrie en flux des populations leucocytaires recrutées dans les îlots et au niveau des tissus adipeux sera réalisé. Des analyses fonctionnelles ex vivo et les cytokines sécrétées dans les milieux conditionnés d'explants de tissus adipeux et d'îlots isolés seront analysées en utilisant la technologie Luminex. Nous espérons ainsi, au travers de ce projet, identifier de nouvelles cibles afin de développer des stratégies thérapeutiques dans le traitement de l'obésité et du DT2.

Titre : Etude de la reprogrammation épitranscriptomique des cellules β pancréatiques par une approche d'inactivation génique ou d'inhibition pharmacologique.

Tuteur : **Jean-Sébastien ANNICOTTE** – INSERM UMR1167 RID-AGE – Faculté de Médecine-Pôle Recherche- 1 place de Verdun- Lille – +33.(0)3.20.97.42.54 – jean-sebastien.annicotte@inserm.fr

Les cellules β pancréatiques, considérées comme le capteur des niveaux de glucose circulants, contrôlent la sécrétion d'insuline par un processus finement régulé. Des dysfonctionnements de ce type cellulaire, associés à une diminution du nombre des cellules β , sont à l'origine de pathologies métaboliques comme le diabète de type 2. Des études récentes ont montré une plasticité de ces cellules entraînant une perte de leur fonction associée au développement du diabète de type 2. Nos résultats semblent démontrer que des modifications réversibles de l'ARN, appelées épitranscriptome, associées à des modifications de l'activité d'enzymes modifiant la biochimie des ARNs, pourraient jouer un rôle clé dans cette reprogrammation cellulaire. Le but de ce projet recherche de master 2 sera d'étudier les mécanismes épitranscriptomiques impliqués dans la plasticité des cellules β pancréatiques en utilisant des stratégies in vitro, basées notamment sur l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques d'enzymes impliquées dans les modifications de l'ARN. Ces données permettront de mieux comprendre les mécanismes de dysfonctionnement des cellules β au cours du développement du diabète et proposer la reprogrammation de l'épitranscriptome comme une nouvelle piste pour l'étude des mécanismes physiopathologiques impliqués dans le diabète de type 2.

Titre : Evaluation des dysfonctions cardiaques induites par le diabète de type 2 dans un modèle de cardiomyocytes humains dérivé de cellules souches humaines pluripotentes induites.

Tutrice : **Florence PINET** – INSERM UMR1167 RID-AGE – Institut Pasteur de Lille - 1 rue du Professeur Calmette - Lille– +33 (0)3 20 87 72 15 – florence.pinet@pasteur-lille.fr

Le diabète de type 2 (DT2), la dyslipidémie ou l'obésité sont les principaux facteurs de risque cardiovasculaires et représentent un enjeu majeur de santé publique car ils sont associés à une mortalité et une morbidité importantes. La coexistence de ces troubles, appelée syndrome métabolique, est associée à une hypertrophie du ventricule gauche et à une dysfonction diastolique, qui peut conduire au développement d'une insuffisance cardiaque (IC). Néanmoins, les mécanismes à l'origine de l'IC et la plasticité cardiaque au cours du DT2 restent peu connus. En conditions pathologiques, comme lors du DT2, l'altération du métabolisme énergétique est un facteur clé de la dysfonction cardiaque en induisant, notamment, une lipotoxicité, une glucotoxicité, une plasticité cellulaire et une dysfonction mitochondriale. Le projet de master aura pour objectif d'évaluer la fonction cardiaque dans des conditions de stress lipotoxique dans un modèle de cellules souches pluripotentes induites différenciées en cardiomyocytes (hiPSc-CMs). Plus spécifiquement, après avoir caractérisé ce modèle préclinique humain de cardiomyocytes dérivés de hiPSc, nous souhaitons évaluer la fonction mitochondriale en condition de gluco-lipotoxicité, identifier les mécanismes impliqués et évaluer l'effet cardioprotecteur d'agents pharmacologiques anti-oxydants dans ces hiPSc-CMs. Ces résultats permettront une meilleure compréhension de ces pathologies et d'identifier de nouvelles approches thérapeutiques.

Titre : 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, bd du Pr Leclercq, Lille - 03 20 97 42 11 – 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.

Titre: **Défaut du compartiment hépatocytaire dans le foie d'hépatite liée à l'alcool et interactions avec les cellules non parenchymateuses**

Tuteur: **Laurent DUBUQUOY**. Infinite, U1286, Faculté de Médecine, pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - laurent.dubuquoy@inserm.fr

L'hépatite liée à l'alcool (AH) est la forme la plus grave de la maladie du foie liée à l'alcool. Elle se caractérise par une progression rapide de la fibrose. Lors d'une étude en cours, utilisant des données omiques obtenues auprès de patients lillois (TargetOH, NCT03773887, PI : Ph. Mathurin) et des approches plus analytiques, nous avons démontré que les foies AH sont caractérisés par un profil de fibrose intralobulaire spécifique (localisation et composition). En développant un modèle original de coculture 3D d'organoïdes hépatiques et de myofibroblastes humains, nous avons démontré que la surexpression de YAP dans des hépatocytes altérés est impliquée dans l'activation et la prolifération des myofibroblastes voisins, révélatrice d'un dialogue entre les hépatocytes et son environnement cellulaire. Au cours du stage de master 2, nous caractériserons davantage les facteurs solubles et membranaires responsables de cette communication pathologique. L'hétérogénéité des myofibroblastes sera résolue en utilisant l'analyse scRNA-Seq du compartiment cellulaire mésenchymateux des foies AH. Les données préliminaires identifient déjà plusieurs sous-populations cellulaires potentiellement impliquées dans la fibrogenèse spécifique de l'AH. L'un d'eux est caractérisé par une expression élevée de F2R (gène codant pour la protéine PAR1) parmi d'autres marqueurs endothéliaux. Les expériences IHC ont confirmé une expression élevée de PAR1 dans la fibrose intralobulaire du foie AH. Pour déchiffrer davantage les mécanismes cellulaires impliqués, nous utiliserons des modèles ex vivo que nous avons récemment développés, tels que la co-culture d'organoïdes 3D ou la culture de tranches épaisses de foie et des modulateurs PAR1.

Sujet : **Rôle du récepteur nucléaire ROR alpha dans l'adipocyte et l'homéostasie métabolique**

Tutrice : **Delphine EBERLE** – UMR1011 – Institut Pasteur de Lille, rue Calmette, Lille – 03.20.87.71.25 – delphine.eberle@univ-lille.fr

L'obésité augmente fortement le risque de développer des pathologies métaboliques, cardiovasculaires et cancéreuses. Face à l'épidémie d'obésité dans le monde, il est urgent de trouver de nouveaux traitements pour lutter contre ce fléau. Lors d'une obésité, le surplus d'énergie est stocké dans le tissu adipeux blanc (TAB) au niveau des adipocytes qui prolifèrent et s'hypertrophient. De façon intéressante, dans d'autres conditions bien particulières, certains adipocytes du TAB sont aussi capables d'utiliser leur stock lipidique pour produire de la chaleur (thermogénèse), et ainsi de favoriser la perte de poids dans un contexte thérapeutique. Mais les facteurs impliqués dans ces processus restent peu connus. Le récepteur nucléaire ROR alpha joue un rôle dans le métabolisme glucido-lipidique, et son expression est modulée en conditions d'obésité ou de production de chaleur. Ainsi, le but de ce projet de master 2 sera de tester le rôle de RORa sur le fonctionnement des adipocytes dans un contexte thermogénique, en utilisant des souris déficientes pour ROR alpha dans l'adipocyte. Nous évaluerons les conséquences métaboliques, biochimiques, tissulaires et moléculaires d'une exposition au froid, et d'un challenge avec un agoniste beta3-adrénergique qui favorise la thermogénèse. Ces travaux nous permettront de définir les conséquences thermogéniques d'une modulation de ROR alpha dans l'adipocyte ainsi que sa pertinence en tant que cible thérapeutique pour traiter l'obésité et le DT2.

Titre: Rôle du glycogène dans le tissu adipeux brun

Tutrice: **Alicia MAYEUF-LOUCHART** - Laboratoire U1172- Centre de neurosciences et cognition- Équipe Dr. Vincent Prévot - 03.20.16.92.14 - alicia.mayeuf-louchart@inserm.fr

Le tissu adipeux brun est un organe thermogénique, qui métabolise environ 20% de l'apport énergétique quotidien en produisant de la chaleur. Une partie du glucose capté par les adipocytes bruns est stockée sous forme de glycogène. Pourtant, le rôle du glycogène et son devenir au sein des adipocytes bruns est peu connu. Récemment, nous avons montré que la dynamique du glycogène, c'est-à-dire sa formation puis sa dégradation, est essentielle à la formation des gouttelettes lipidiques au cours de la différenciation des adipocytes bruns. Chez l'Homme, les glycogénoses représentent une famille de maladies génétiques rares où des gènes impliqués dans le métabolisme du glycogène sont mutés. Cependant, à l'heure actuelle, il n'existe aucune étude du tissu adipeux brun dans ce contexte.

L'objectif de ce projet est de caractériser le tissu adipeux brun dans des modèles murins de glycogénose.

Cette étude sera basée sur des expériences d'histologie classique (coupes de tissus, colorations, immunohistochimie, microscopie), et de microscopie électronique. Des expériences de biologie cellulaire (culture cellulaire, immunohistofluorescence, microscopie confocale), de biologie moléculaire (extraction d'ARN, RTqPCR) et métaboliques (dosages biochimiques) seront également réalisées.

Le projet s'intègre dans une étude collaborative impliquant plusieurs partenaires en France et à l'étranger. Ce projet a pour ambition d'initier un projet de thèse.

Title: Characterization of a tandem duplication involved in a constitutional epimutation of the MLH1 gene using long-read sequencing and induced pluripotent stem cells

Tutrice : **Julie LECLERC** - Laboratoire CANTHER (Hétérogénéité, Plasticité et Résistance des Cancers aux Thérapies), UMR9020 CNRS – U1277 Inserm – Université de Lille – CHU de Lille - julie.leclerc@inserm.fr
julie.leclerc@chu-lille.fr

Constitutional epimutations of the MLH1 gene are an alternative mechanism to genetic mutations in the etiology of Lynch syndrome, a cancer predisposition syndrome. Patients with this epigenetic alteration exhibit hypermethylation of the MLH1 promoter. The precise molecular mechanisms underlying this hypermethylation remain poorly understood. While initially considered to be non-transmissible to offspring due to the erasure of epigenetic marks in germ cells, cases of intergenerational transmission have been documented, often linked to the presence of a genetic event in cis (secondary epimutations). We identified specific genetic variants segregating with the hypermethylation in families with secondary epimutations, including a tandem duplication spanning 29.5 kb (Leclerc et al., Genetics in Medicine 2018). The aim of the project is to further characterize this duplication using innovative strategies. (1) Long-read Nanopore sequencing will be used to simultaneously analyze the genetic sequence and methylation profile across the MLH1 gene. This analysis may be complemented by Optical Genome Mapping using Bionano technology. (2) Induced pluripotent stem cells (iPSCs) have been generated from differentiated cells of a patient carrying the 29.5 kb duplication, thus creating a cellular model of this epimutation. These iPSCs will be used to characterize molecular mechanisms involved in hypermethylation, and to test demethylating therapies (epigenome editing). Additionally, they will be differentiated into organoids for further study.

Key words: epigenetics; oncogenetics; induced pluripotent stem cells; organoids; long-read sequencing.

Project title: **Impact of glucocorticoids on islet function: role of SRD5A1 as a modulator of glucocorticoids bioavailability**

Tutor: **Stéphanie ESPIARD** - Translational Research Laboratory for Diabetes, INSERM UMR1190, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Place de Verdun, Lille - 03 20 62 69 63 - stephanie.espiard@univ-lille.fr

Glucocorticoids (GCs) play a pivotal role in regulating physiological processes, including glucose and lipid homeostasis. Overexposure to GCs, whether through endogenous cortisol excess or synthetic GC treatments, results in metabolic complications, notably diabetes. The metabolism of GCs within metabolic tissues is crucial in regulating their bioavailability, with the HSD11B1 and SRD5A1 enzymes playing critical roles. Interestingly, in obesity, a state of tissular cortisol overexposure contributing to the onset of metabolic complications has been described. While HSD11B1 has been extensively studied, clinical trials targeting this enzyme have yielded limited benefits. In contrast, SRD5A1's involvement in obesity-induced metabolic complications remains underexplored. Interestingly, recent animal models and human studies suggest that inhibiting SRD5A1 increases the risk of developing metabolic complications, including diabetes. We also postulate that enhancing SRD5A1 activity could mitigate the metabolic dysfunctions associated with excessive GCs exposure, as seen in obesity and synthetic GC therapy.

The master's student project will focus on pancreatic beta-cell function. The aim would be to study, using human islets, the consequences of SRD5A1 overexpression on glucose-stimulated insulin secretion after treatment by GCs. All the experiments necessary for this project are mastered and routinely used in the lab.

Title: **Characterization of calcium pathways involving TRPM2 channel in therapy resistance of breast cancer cells**

Supervisor: **Dimitra GKIKA** - CANTHER « Hétérogénéité, plasticité et résistance aux thérapies des cancers », UMR 9020 CNRS – UMR 1277 Inserm, Équipe « Plasticité cellulaire et Cancer » - dimitra.gkika(@)univ-lille.fr

Ion channels have recently emerged as crucial players in the process of carcinogenesis, presenting themselves as promising therapeutic targets. In our laboratory, we have established the expression profile of TRP channels in triple negative cells after chemo- and radiotherapy treatment and identified TRPM2 as a channel increasing cell viability. The objective of this Master's internship will be to understand how the TRPM2 channel influences cell persistence, focusing particularly on their ability to adapt to chemo- and radiotherapy treatments, thereby contributing to their aggressive nature. Specifically, the candidate student will characterize the calcium signaling pathways promoting the cell viability of persistent cells.