

Projet de thèse : Régulation et rôle des adipocytes médullaires dans la toxicité osseuse de l'insuffisance rénale chronique - IRCAMOS

Description de la problématique de recherche

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est associée à une fragilité osseuse multipliant par 4 l'incidence des fractures et doublant le risque de mortalité chez les patients dialysés. Les mécanismes responsables de cette fragilité osseuse restent mal compris. Des études cliniques récentes démontrent que les patients souffrant d'IRC montrent une adiposité médullaire (AM) anormalement élevée. L'adiposité médullaire correspond à une accumulation de cellules graisseuses, appelées adipocytes médullaires (AdMed), au niveau de la moelle osseuse. Les études menées ces dix dernières années montrent que l'élévation de l'AM est associée à des altérations de la microarchitecture osseuse et est en général fortement corrélée à une baisse de la densité minérale osseuse (DMO) ainsi qu'à une élévation du risque de fractures. A ce jour, les mécanismes par lesquels l'IRC amplifie l'AM n'ont pas été identifiés. Les conséquences sur l'os de cette élévation d'AM n'ont jamais été étudiées dans ce contexte.

En janvier 2020 les chercheurs du MABLab (Boulogne-sur-Mer), spécialisés dans l'étude de l'AM, se sont alliés aux chercheurs du MP3CV (Amiens), spécialisés dans l'étude des troubles minéraux et osseux associés à l'IRC, afin de vérifier si cette élévation de l'AM est modélisable, et donc étudiable, *in vivo* chez la souris. Après avoir confirmé par analyse microtomographique que l'AM est significativement doublée dans le modèle murin d'IRC maîtrisé par le MP3CV, les chercheurs proposent au travers de ce projet de thèse: 1- d'identifier les mécanismes par lesquels l'IRC amplifie l'adiposité médullaire, 2- d'évaluer l'influence de ces adipocytes médullaires sur l'activité des ostéoblastes, des ostéoclastes, et sur la qualité osseuse, et 3- de développer un modèle murin original de néphropathie diabétique qui, en intégrant les comorbidités de l'IRC (obésité, diabète), importantes dans notre région, devrait améliorer le potentiel translationnel des études du domaine. Ce projet est au cœur des problématiques régionales de santé puisque la région Hauts-de-France est parmi celles où l'incidence de l'IRC est la plus importante. Il s'appuie sur une étude clinique qui se met en place entre les CHU de Lille et Amiens, s'inscrit dans la continuité du projet ODIRC financé au titre de l'appel à projet 2020 de l'alliance A2U et permettra la réalisation du projet ADIPOTOX, porté par C. Chauveau et L. Hénaut, projet financé au titre de l'appel à projet 2022 du CPER MOSOPS.

Objectifs du projet de thèse

Principaux objectifs du projet :

- 1/ Identifier les mécanismes par lesquels l'insuffisance rénale chronique (IRC) amplifie l'AM (tâche 1)
- 2/ Evaluer l'impact des AdMed différenciés en conditions d'IRC sur l'activité des ostéoblastes et des ostéoclastes, et vérifier la relation *in vivo* entre l'AM et la microarchitecture, la qualité et la fragilité de l'os (tâche 2).
- 3/ Développer et caractériser un modèle murin de néphropathie diabétique qui, en intégrant les comorbidités de l'IRC (obésité, diabète), améliorera considérablement le potentiel translationnel (i.e la transposition vers le patient) de nos recherches (tâche 3).

Détail des tâches qui seront à réaliser :

Le projet de thèse est découpé en trois tâches associées aux trois objectifs principaux. Les tâches dont le/la doctorant(e) aura la charge sont les suivantes:

Tâche 1 : Cette tâche consistera à évaluer *ex vivo* les capacités de différenciation adipogénique des BMSC (Bone Marrow Stromal Cells) issues de la moelle osseuse de souris contrôles ou souffrant d'insuffisance rénale chronique. Les résultats obtenus seront confirmés *in vitro* sur des échantillons humains en suivant l'impact de l'exposition à un sérum provenant de patients IRC ou de sujets sains sur la différenciation adipogénique de BMSC humaines. En parallèle de ces travaux, l'étudiant(e) réalisera une analyse transcriptomique par RNA-Seq afin de caractériser le profil phénotypique des BMSC provenant des moelles osseuses de souris contrôles et IRC. Ceci permettra de vérifier si les BMSC issues des souris IRC montrent des marqueurs de pré-engagement adipocytaire.

Tâche 2: La seconde partie du travail visera à évaluer l'impact de surnageants de culture (sécrétome) provenant d'AdMed différenciés à partir de BMSC IRC ou contrôles sur la différenciation et la fonctionnalité des ostéoblastes et ostéoclastes *in vitro*. En parallèle de ce travail, le/la doctorant(e) vérifiera dans le modèle d'IRC si une corrélation existe entre élévation de l'AM et modifications de la microarchitecture (par microtomographie) et de la qualité de la matrice (par spectroscopie Raman) osseuses.

Tâche 3: Si le diabète de type 2 (DT2) est la première cause d'IRC terminale dans les pays développés, la plupart des modèles animaux d'IRC ne tiennent pas compte de cet environnement diabétique particulier. C'est pourquoi une étude pilote sera réalisée pour associer une IRC (modèle maîtrisé par le MP3CV) à une obésité et un diabète de type 2 (modèle développé par le MABLab). Ce modèle original sera utilisé par le/la doctorant(e) pour vérifier l'impact du contexte IRC/DT2 (plus proche de la réalité clinique) sur l'adiposité médullaire.

Profil du candidat

Le candidat devra être détenteur d'un diplôme d'expérimentation animale (niveau concepteur ou applicateur de procédures expérimentales) et avoir déjà une première expérience du travail chez le rongeur de laboratoire. La maîtrise des outils de bases de biologie moléculaire et de culture cellulaire serait un plus.

Organisation du projet et suivi

Le/la doctorant(e) sera co-dirigé(e) par le Pr. C. Chauveau, spécialisé dans l'étude de l'adiposité médullaire et de l'os, côté MABLab, et le Dr L. Hénaut, spécialisée dans l'étude des conséquences cardio-vasculaires et osseuses de l'IRC, côté MP3CV. Il sera inscrit à l'ULCO et affilié au MABLab où il réalisera la majorité de ses recherches. La direction de la thèse sera assurée à 50% par chaque co-directeur. Une réunion mensuelle entre le/la doctorant(e) et ses deux co-directeurs sera mise en place sous forme de visioconférence afin de dresser un bilan régulier sur l'avancée des travaux de thèse (discussion autour des résultats, des prochains objectifs scientifiques et du déroulement général de la thèse). Une attention particulière sera accordée au suivi de la progression de l'étudiant(e) en termes de maîtrise du sujet et de la littérature associée, ainsi qu'en termes d'autonomie, de capacités de propositions, de réalisation des expériences et d'interprétation des données. Les encadrants seront attentifs à la pertinence des choix des formations suivies au sein de l'ED STS ainsi qu'à la maturation progressive du projet professionnel du/de la doctorant(e). Le/la doctorant(e) participera en présentiel aux réunions hebdomadaires du MABLab et en visioconférence aux réunions hebdomadaires du MP3CV. Bien qu'il/elle soit affilié(e) au MABLab, le/la doctorant(e) recruté(e) sera invité(e), au même titre que les doctorants du MP3CV, à présenter ses résultats à l'occasion des réunions de laboratoire hebdomadaires du MP3CV. Il lui sera aussi demandé de participer au Journal Club animé par les étudiants du MP3CV (réunion mensuelle). Cette organisation permettra à l'étudiant(e)

de s'imprégner à part égale des deux thématiques de recherches autour desquelles s'articule son sujet de thèse. Le/la doctorant(e) réalisera plusieurs périodes de mobilité au sein du laboratoire MP3CV. Il/elle participera à des congrès nationaux et internationaux en présentant ses résultats sous forme d'affiches et de communication orales. Dès que cela sera possible, il/elle sera directement impliqué(e) dans la rédaction d'articles de recherche relatifs à l'étude menée. Enfin, un comité de suivi individuel (CSI) annuel sera organisé.