

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : UMR 703 Oniris / INRAE PAnTher - Physiopathologie Animale et Biothérapie des maladies du Muscle et du Système Nerveux

Web site PAnTher : <https://www6.angers-nantes.inrae.fr/panther/>

Web site: <http://www.neuratrix.com/>

Nom-Prénom de l'encadrant : Marie-Anne Colle & Karl Rouger

Courriel de l'encadrant : marie-anne.colle@oniris-nantes.fr; karl.rouger@inrae.fr

Candidat pressenti : Marie Raballand

Titre du stage : Effet de l'enzymothérapie substitutive sur la physiopathologie du muscle squelettique dans la maladie de Pompe (glycogénose de type 2) : focus sur l'autophagie

Résumé du projet proposé : La maladie de Pompe (glycogénose de type 2) est une maladie de surcharge lysosomale due à un déficit en alpha-glucosidase acide (GAA), qui entraîne une accumulation de glycogène dans de nombreux tissus et en particulier dans le muscle squelettique. La thérapie enzymatique substitutive avec la GAA humaine recombinante (Myozyme®) a augmenté de manière significative la durée de vie des patients atteints de la forme infantile en corrigeant la pathologie cardiaque. Néanmoins, la réponse du muscle squelettique à l'ERT est très variable d'un patient à l'autre. Par conséquent, une reconsidération de la pathogenèse musculaire a émergé au cours de la dernière décennie, mettant en évidence une dérégulation de la voie de l'autophagie en plus de l'accumulation initiale de glycogène lysosomal due au déficit de la GAA. L'objectif de ce projet de recherche est d'apporter un nouvel éclairage sur la physiopathologie de la maladie de Pompe afin de proposer un traitement plus approprié.

En collaboration avec le Pr P. Laforêt du Centre de Référence de Pathologie Neuromusculaire Nord-Est-Ile de France et un consortium clinique national de 6 équipes hospitalières, nous avons pour objectifs de mieux comprendre i) la réponse partielle du muscle à l'enzymothérapie substitutive et ii) le rôle de la dérégulation du flux autophagique dans le métabolisme et la pathologie musculaires chez les patients affectés par la maladie et dans le modèle murin GAA-KO de la maladie par des approches histologiques et biochimiques.

Pour cela, l'étudiant.e sera amené.e à :

- travailler sur des biopsies musculaires de patient et des échantillons tissulaires murins
- évaluer l'impact de l'enzymothérapie substitutive sur la physiopathologie musculaire et les voies de régulation de l'autophagie et de la biogénèse mitochondriale par des approches complémentaires (RT-PCR, Western-Blot, immunohistochimie)

Option à laquelle est associée ce projet : Biothérapie de l'appareil locomoteur

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : UMR 703 Oniris / INRAE PAnTher - Physiopathologie Animale et Biothérapie des maladies du Muscle et du Système Nerveux

Web site PAnTher : <https://www6.angers-nantes.inrae.fr/panther/>

Web site: <http://www.neuratrix.com/>

Nom-Prénom de l'encadrant : Candice BABARIT et Marie-Anne COLLE

Courriel de l'encadrant : candice.babarit@inrae.fr; marie-anne.colle@oniris-nantes.fr

Candidat pressenti : non

Titre du stage : Effet de l'endurance chronique sur la neuroinflammation dans la maladie de Pompe (glycogénose de type 2)

Résumé du projet proposé :

La maladie de Pompe (glycogénose de type 2) est une maladie de surcharge lysosomale due à un déficit en alpha-glucosidase acide (GAA), qui entraîne une accumulation de glycogène principalement dans le muscle squelettique et le cœur. La thérapie enzymatique substitutive avec la GAA humaine recombinante (Myozyme®) a augmenté de manière significative la durée de vie des patients atteints de la forme infantile (IOPD) en corrigeant la pathologie cardiaque. Cependant, les enfants IOPD traités par enzymothérapie présentent des symptômes neurologiques tels que des difficultés de langage et d'élocution, de déglutition, ainsi que des retards cognitifs. L'enzyme recombinante injectée aux patients ne traversant pas la barrière hémato-encéphalique, l'enzymothérapie substitutive a fait émerger un phénotype neurologique jusque-là masqué par la faible espérance de vie des patients, et a amené la communauté scientifique et médicale travaillant sur la maladie à reconsidérer sa pathogénie et à ouvrir de nouveaux champs de recherche mécanistiques et thérapeutiques. L'exercice physique est proposé comme traitement pour améliorer les performances cérébrales et retarder le déficit cognitif observé dans les maladies neurodégénératives. Chez les patients atteints de la maladie de Parkinson et soumis à un exercice physique, il a été montré une amélioration des fonctions motrices et comportementales. Le but de ce projet est d'évaluer l'impact d'un exercice physique d'endurance chronique sur l'inflammation du système nerveux dans la maladie de Pompe.

Pour cela, l'étudiant.e sera amené.e à :

- travailler sur des échantillons tissulaires de souris Pompe (GAA-KO) ayant fait l'objet d'un exercice physique d'endurance chronique sur tapis de course
- évaluer l'impact de l'endurance chronique sur la neuroinflammation, plus spécifiquement sur l'activation astrocytaire et microgliale, les profils d'expression cytokinique par des approches complémentaires (RT-PCR, Western-Blot, immunohistochimie)

Option à laquelle est associée ce projet : Biothérapie de l'appareil locomoteur

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : UMR 703 Oniris / INRAE PAnTher - Physiopathologie Animale et Biothérapie des maladies du Muscle et du Système Nerveux

Web site PAnTher : <https://www6.angers-nantes.inrae.fr/panther/>

Web site: <http://www.neuratrix.com/>

Nom-Prénom de l'encadrant : Marie-Anne COLLE

Courriel de l'encadrant : marie-anne.colle@oniris-nantes.fr

Candidat pressenti : non

Titre du stage : Effet de l'endurance chronique sur la jonction neuromusculaire dans la maladie de Pompe (glycogénose de type 2)

Résumé du projet proposé : La maladie de Pompe est une maladie de surcharge lysosomale due à un déficit en alpha-glucosidase acide (GAA), qui entraîne une accumulation de glycogène principalement dans le muscle squelettique et le cœur. L'enzymothérapie substitutive par apport de la GAA humaine recombinante (Myozyme®) a permis un allongement de l'espérance de vie notamment dans la forme infantile mais a vu apparaître l'émergence d'un nouveau phénotype neurologique chez les enfants traités. L'enzyme recombinante injectée aux patients ne traversant pas la barrière hémato-encéphalique, l'enzymothérapie substitutive a fait émerger un phénotype neurologique jusque-là masqué par la faible espérance de vie des patients, et a amené la communauté scientifique et médicale à reconsidérer sa pathogénie. Dans le modèle murin, les travaux du laboratoire et ceux de l'équipe de B. Byrne ont montré un dysfonctionnement de la jonction neuromusculaire caractérisé par une fragmentation de la plaque motrice, une réexpression des sous-unités du récepteur à l'acétylcholine dans le diaphragme et le muscle tibial antérieur (TA) chez la souris GAA-KO suggérant une possible dénervation. La jonction neuromusculaire comme toutes les synapses présente un degré de plasticité élevée en réponse à un processus pathologique ou physiologique tel que l'exercice physique. En particulier, l'endurance chronique stimule la jonction neuromusculaire en initiant un remodelage structural et fonctionnel à l'origine d'un accroissement des performances et de la résistance à la fatigue. Le but de ce projet est d'évaluer l'impact d'un exercice physique d'endurance chronique sur le dysfonctionnement de la jonction neuromusculaire dans la maladie de Pompe.

Pour cela, l'étudiant.e sera amené.e à :

- travailler sur des échantillons tissulaires de souris Pompe (GAA-KO) ayant fait l'objet d'un exercice physique d'endurance chronique sur tapis de course
- évaluer l'impact de l'endurance chronique sur la jonction neuromusculaire dans un muscle squelettique à activité locomotrice (TA ou muscle gastrocnémien) ou respiratoire (diaphragme) par des approches complémentaires (RT-PCR, Western-Blot, immunofluorescence en multiple marquage)

Option à laquelle est associée ce projet : Biothérapie de l'appareil locomoteur

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire: RMeS-Regenerative Medicine and skeleton, INSERM UMRS 1229

N° d'équipe : REJOINT

Nom-Prénom de l'encadrant : Claire Vinatier

Courriel de l'encadrant : claire.vinatier@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Non

Titre du stage : Rôle des O-GlcNAc dans l'homéostasie articulaire et l'arthrose

Résumé du projet proposé : L'arthrose, la maladie articulaire la plus fréquente chez l'adulte, affecte plus de 500 millions de personnes dans le monde. L'arthrose touche les articulations périphériques et celles de la colonne vertébrale et endommage tous les composants de l'articulation. A l'instar du vieillissement, l'arthrose est décrite comme la conséquence d'une perturbation de l'homéostasie cartilagineuse. Afin de maintenir leur homéostasie, les chondrocytes dépendent de l'activité autophagique pour l'élimination des organites ou macromolécules endommagées ou non-fonctionnels. Avec l'âge et au cours de l'arthrose, l'accumulation de molécules endommagées provoque un stress oxydatif qui entraîne la sénescence des chondrocytes. Découvert en 1984 par Torres et Hart, la O-GlcNAcylation, une modification post-traductionnelle des protéines joue un rôle important dans de nombreuses fonctions cellulaires dont la survie cellulaire, la sénescence et l'autophagie. Cependant, bien que la O-GlcNAcylation soit modulée dans le cartilage articulaire, son rôle dans l'homéostasie cartilagineuse et l'arthrose reste largement inconnu. Dans ce projet, nous proposons de tester l'hypothèse selon laquelle la O-GlcNAcylation des protéines pourrait jouer un rôle dans l'homéostasie articulaire et le développement de l'arthrose. Dans cette optique, nous voulons i) évaluer le niveau de O-GlcNAcylation dans le cartilage et la membrane synoviale arthrosiques, ii) étudier l'impact de la modulation de la O-GlcNAcylation sur les chondrocytes et les synoviocytes in vitro dans des conditions physiologiques et pathologiques simulant l'arthrose.

Pour cela, l'étudiant.e sera amené.e à :

- Cultiver des chondrocytes et synoviocytes (lignées, primaires issus de prélèvements humains ou murins)
- Réaliser différents traitements cellulaires (cytokines, protéines recombinantes, inhibiteurs...)
- Evaluer l'impact des traitements modulant la o-GlcNAcylation sur différents processus comme l'autophagie, la senescence et l'inflammation dans ces modèles cellulaires par différents types d'analyses (RT-qPCR, Western-Blot, Elisa, dosages biochimiques).
- Analyser et comprendre ses résultats

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : Neurosciences et Vieillesse (<http://the-laurent-lab.com/>)

Nom-Prénom de l'encadrant : LAURENT Benoit

Courriel de l'encadrant : benoit.laurent@usherbrooke.ca

Candidat pressenti : Non

Titre du stage : Améliorer le potentiel de régénération nerveuse à l'aide de biomatériaux

Résumé du projet proposé :

Le système nerveux périphérique (SNP) a la capacité unique de régénérer les axones endommagés et de reconstruire des connexions fonctionnelles. Cette fonctionnalité du SNP repose sur les cellules de Schwann. Cependant, la récupération fonctionnelle après une lésion nerveuse est généralement médiocre chez l'Homme, car la régénération est généralement limitée à quelques millimètres. L'utilisation de conduits de guidage nerveux (CGN) a été développée pour faire le pont entre les nerfs coupés et encourager la régénération axonale. Néanmoins, les options actuelles ne sont pas optimales d'un point de vue topologique, mécanique et biologique pour favoriser la croissance des axones sur de longues distances. Nous avons développé un nouveau CGN biocompatible aux propriétés mécaniques améliorées. Notre objectif général est d'évaluer le potentiel de ce biomatériau microstructuré pour améliorer la régénération nerveuse.

Objectif 1. Évaluer l'impact du biomatériau sur la survie et prolifération cellulaire. Nous étudierons si ce CGN permet la survie et la prolifération cellulaire et déterminerons les mécanismes moléculaires sous-jacents par analyse transcriptomique.

Objectif 2. Étudier le potentiel de régénération neuronale. Nous évaluerons si notre CGN fournit une topographie appropriée pour la croissance des neurites à l'aide d'un modèle de culture imitant le microenvironnement du SNP. Les cellules précurseurs neurales et les cellules de Schwann seront générées à partir de lignées de cellules souches pluripotentes induites pour cet objectif.

Les tâches de l'étudiant.e comprendront en outre la production de conduits de guidage nerveux, la manipulation de lignées cellulaires et de cellules souches, la préparation de bibliothèques de séquençage (RNA-seq), la réalisation d'immunofluorescence. Un.e candidat.e avec une bonne maîtrise de l'anglais est important car le groupe de recherche est international.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CRCI2NA / INSERM UMR 1307 / CNRS UMR 6075 / Université de Nantes / Université d'Angers.

N° d'équipe : 9

Nom-Prénom de l'encadrant : Verrecchia Franck

Courriel de l'encadrant : franck.verrecchia@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Edith LOISY

Titre du stage : Rôle des canaux calciques dans le développement des Sarcomes d'Ewing

Résumé du projet proposé :

La découverte de nouvelles cibles thérapeutiques pour les cancers pédiatriques est une priorité du plan national de lutte contre le cancer. Après les cancers du sang et les tumeurs cérébrales, les sarcomes sont les tumeurs pédiatriques les plus fréquentes. Parmi ceux-ci, on distingue les sarcomes osseux dont les sarcomes d'Ewing (SE) qui représentent les deuxièmes les plus fréquents après les ostéosarcomes. Malheureusement, malgré des progrès dans la prise en charge de ces patients, le taux de survie, en particulier mauvais répondeurs aux traitements ou présentant des métastases au diagnostic, reste très faible.

Les canaux ioniques sont des structures qui assurent le passage des ions au travers des membranes cellulaires. Emergent dans la littérature plusieurs études innovantes sur le rôle de ces structures dans le développement tumoral. Une expression aberrante de ces canaux a été montrée dans divers types de cellules tumorales où leurs fonctions originales sont détournées pour promouvoir le développement tumoral. Nos travaux ont permis l'identification de deux canaux calciques jouant un rôle majeur dans le contrôle de la prolifération des cellules de SE. Ces structures agissent indirectement via la régulation de l'activité calcique intracellulaire mettant en évidence le rôle crucial du calcium dans la régulation de la prolifération des cellules de SE. Dans ce contexte, nous développons une étude pilote sur le rôle des conductances calciques et de l'activité calcique intracellulaire dans le développement des SE.

Option à laquelle est associée ce projet :

- X Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- X Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : INSERM UMR 1089 TARGET

N° d'équipe : ATIP AVENIR – Next Generation Disease Models

Nom-Prénom de l'encadrant : Dupont Jean-Baptiste

Courriel de l'encadrant : jean-baptiste.dupont@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Maturation génétique d'un modèle organoïde musculaire dérivé de cellules souches pluripotentes par criblage siRNA

Résumé du projet proposé :

Les cellules souches induites à la pluripotence (cellules iPS) et les organoïdes tridimensionnels qui en dérivent ont récemment émergé comme de nouveaux modèles expérimentaux, susceptibles à terme de remplacer les modèles animaux pour certaines applications. Néanmoins, le niveau de maturation des cellules et organoïdes obtenues à partir de cellules iPS est souvent insuffisant pour pouvoir reproduire fidèlement les caractéristiques fonctionnelles des tissus d'intérêt, ainsi que les phénotypes de maladies monogéniques ciblées. C'est notamment le cas des organoïdes de muscles squelettiques que nous développons au laboratoire, et qui par leur morphologie et leur programme d'expression génique, présentent plutôt des caractéristiques de muscles embryonnaires / foëtaux.

Notre équipe développe actuellement un protocole de maturation pour les organoïdes musculaires dérivés de cellules iPS, dans le but d'améliorer leur structure ainsi que leurs propriétés fonctionnelles. Pour ce faire, nous combinons des approches biophysiques visant à reproduire les propriétés du microenvironnement musculaire lors du développement (tension mécanique, stimulation électrique), et des approches biochimiques et génétiques par l'addition de facteurs définis dans le milieu de différenciation (cytokines, facteurs de croissance, etc.). Ce stage aura les objectifs suivants :

- 1) Mettre au point un protocole de transfection de petits ARN interférents (siRNA) dans le modèle organoïde musculaire
- 2) Cribler une librairie de siRNA prédéterminée pour identifier des verrous génétiques inhibant la maturation des myotubes au sein des organoïdes

Le ou la stagiaire développera des compétences théoriques et pratiques en culture cellulaire, biologie des cellules souches et bio-ingénierie, ainsi qu'en biologie moléculaire (extraction ARN, RT-PCR quantitative) et imagerie par microscopie à fluorescence.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : **INSERM UMR1229 Regenerative Medicine and Skeleton (RMeS), Nantes**

N° d'équipe : Équipe REJOINT (Regeneration and pathophysiology of joints)

Nom-Prénom de l'encadrant : GUIHO Romain

Courriel de l'encadrant : romain.guiho@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : /

Titre du stage : **Décryptage des communications cellulaires associées à la sénescence dans un modèle murin in vitro de dégénérescence du disque intervertébral (IVDD)**

Résumé du projet proposé :

L'IVDD se caractérise par la dégradation du disque intervertébral, associée à la perte de fonctions, au handicap et à la douleur. La physiopathologie de l'IVDD n'est pas encore totalement comprise et il n'existe que des traitements palliatifs pour limiter la douleur. Le disque intervertébral est un organe complexe, et sa perturbation a également des répercussions au niveau cellulaire. Au cours de la dernière décennie, plusieurs études ont suggéré que les cellules sénescents (SnC) du noyau pulpeux (NP) et de l'anneau fibreux (AF) pourraient jouer un rôle dans la pathogenèse de l'IVDD, en liant leur **phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP)** à l'apparition et à la perpétuation de la maladie.

Il semble essentiel de déchiffrer comment les différents compartiments cellulaires du disque et son environnement communiquent dans le contexte de l'apparition de la sénescence cellulaire. Le décodage de la séquence d'événements, en se concentrant sur la propagation de la sénescence, pourrait permettre de déterminer les initiateurs cellulaires et moléculaires potentiels, dans le but de proposer des cibles pour de nouvelles options thérapeutiques. Par conséquent, ce projet vise à **développer une plateforme in vitro pour étudier ces communications inter-compartiments dépendantes des SnCs**, afin de découvrir les partenaires et les mécanismes cellulaires clés. Il est prévu de :

1. **Etablir et caractériser un modèle in vitro robuste de sénescence cellulaire pour les cellules du disque.** Les nucléopulpecytes, les cellules de l'AF, les chondrocytes des plaques terminales et les cellules souches mésenchymateuses différenciées dans le lignage ostéoblastique seront isolées à partir de queues de rats. La sénescence cellulaire sera induite et évaluée (immunomarquage p16^{INK4} et p21^{Cip1}, cytométrie en flux pour l'analyse du cycle cellulaire, coloration SA-β-Gal, qRT-PCR pour les composants du SASP).

2. **Développer une plateforme de mini-culture pour explorer la propagation de la sénescence in vitro.** La propagation de la sénescence sera évaluée de manière exhaustive par co-culture. Le phénotype sénescents sera confirmé et les voies activées pertinentes seront identifiées à l'aide d'RNAseq. Les analyses connexes seront effectuées à l'aide de Rstudio.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Internship form

Course M2 BBRT 2023-24

Laboratory: INSERM UMR 1229 / RMeS - Regenerative Medicine and Skeleton

Team No: REJOINT "Regeneration and pathophysiology of joints"

Supervisor's full name: CAMUS Anne; DELPLACE Vianney

Email of the supervisor: anne.camus@univ-nantes.fr; Vianney.Delplace@univ-nantes.fr

Prospective candidate: no

Internship Title: **Intervertebral disc development and regeneration**

Summary of proposed project:

The intervertebral disc (IVD) is a fibro-cartilage normally ensuring the function of a "mechanical stress absorber" within the vertebral column. During embryogenesis, notochordal cells play major roles in vertebral column formation. Whereas notochord cells disappear during the formation of the vertebrae, they persist in the fully formed IVD and exert significant influence over the physiology of the IVD. The loss of the notochordal cells has been correlated with disc aging and degeneration and with IVD structural integrity deterioration. IVD degeneration is one of the major causes of chronic low back pain (40% of the patients) and constitutes a real public health concern. As current treatments fail to restore the disc health and function, new therapies able to reverse disc degeneration with the ultimate goal to improve IVD function and reduce back pain are needed. Precise understanding of normal tissue development, growth and maturation, including cell-cell communication, cell-matrix interaction, gene regulation and growth factor control are critical in contributing to the identification of symptom-modifying factors or to the emergence of new therapeutic targets.

This project combines fundamental studies using the mouse model that resembles in many aspects the structure and the function of human disc and innovative human induced pluripotent cells (hiPSC) differentiation systems.

One objective is to characterise key factors controlling notochordal cells proliferation and maturation by the analysis of novel biomarkers expression during disc development in the mouse, using our recently generated single cells transcriptomic dataset.

The second objective is to develop a 3D in vitro model system based on cell-instructive biomaterials (bio-inspired hydrogels) to control the maturation of stem cell-derived notochord-like cells and study the impact of applying mechanical and environmental constraints occurring in pathological situations.

The project will involve 3D cell culture, and characterization of cell phenotypes and functions (quantitative expression analysis: RT-QPCR, high-throughput transcriptomic analysis, single cell technology, immunofluorescence, imaging analysis).

Option with which this project is associated:

Biotherapies of the locomotor system

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : INSERM UMR 1229 / RMeS - Regenerative Medecine and Skeleton

N° d'équipe : REJOINT "Regeneration and pathophysiology of joints"

Nom-Prénom de l'encadrant : Blanchard Frédéric, Benoit Le Goff

Courriel de l'encadrant : frederic.blanchard@univ-nantes.fr, Benoit.LEGOFF@chu-nantes.fr

Candidat pressenti : aucun

Titre du stage : effets de l'altération de la voie CSF1 dans la synovite villonodulaire pigmentée

Résumé du projet proposé :

La synovite villonodulaire pigmentée (PVNS) est une pathologie articulaire rare atteignant classiquement les grosses articulations. Il s'agit d'une tumeur bénigne caractérisée par des fibroblastes mutés sur le gène *colony-stimulating factor 1* (CSF1) entraînant la sur-expression de CSF-1, le recrutement de macrophage exprimant le CSF1-récepteur (CSF1R) et l'infiltration de la membrane synoviale par des cellules inflammatoires conduisant aux symptômes et à la destruction des articulations. Malgré les thérapeutiques actuelles (prise en charge chirurgicale et/ou traitements systémiques) l'impact fonctionnel reste majeur. Les traitements systémiques validés à ce jour, ciblent la voie de signalisation du CSF1 mais ils ne sont efficaces que chez 30% des patients et exposent à des effets indésirables potentiellement graves. Mieux connaître la physiopathologie de la PVNS et les mécanismes d'actions de ces thérapeutiques semblent donc essentiels.

Une filière de patients porteurs de PVNS est déjà bien individualisée au CHU de Nantes grâce à une collaboration avec les chirurgiens orthopédistes. Nous obtenons pour chaque patient leurs caractéristiques cliniques, évolution, traitements et tissu synovial issu de biopsies échoguidées ou de chirurgie. En parallèle, nous avons développé au sein du laboratoire un modèle in vitro de culture d'explants de synovite.

Grâce à ces différents outils et expertises, l'objectif de ce stage est de tester in vitro l'efficacité de différentes molécules déjà utilisées par voie systémique pour le traitement des PVNS (inhibiteur de kinase impliquées dans le contrôle de la voie du CSF-1 : imatinib, nilotinib, pexidartinib ou anticorps monoclonaux anti-CSF-1) sur des explants issus de tissus de patients. L'effet de divers médicaments sera étudié par histologie/immunofluorescence multiparamétrique, RTqPCR et analyse du sécrétome (essais multiparamétriques Luminex) en se concentrant sur la viabilité, la prolifération et l'activation des cellules synoviales.

Option à laquelle est associée ce projet :

Biothérapies de l'appareil locomoteur

Laboratoire : **INSERM UMR1229 Regenerative Medicine and Skeleton (RMeS), Nantes**
N° d'équipe : **Équipe REJOINT (Regeneration and pathophysiology of joints),
Groupe 3 – STRATOA (Immune cells and osteoarthritis personalized therapies)**
Nom-Prénom de l'encadrant : **Anaïs Cardon et Marie-Astrid Boutet**
Courriel de l'encadrant : anaïs.cardon@univ-nantes.fr / marie-astrid.boutet@univ-nantes.fr
Candidat pressenti : Aucun

Titre du stage : **Étude de l'hétérogénéité des lymphocytes dans la membrane synoviale de patients atteints d'arthrose**

Résumé du projet proposé :

L'**arthrose** (*osteoarthritis*, **OA**) est la plus commune des maladies rhumatismales, touchant plus de 500 millions de personnes dans le monde. Cette pathologie incurable et dégénérative conduit à la dégradation du cartilage, à du remodelage osseux et à une inflammation de la membrane synoviale (ou synovite) entraînant une perte de fonction articulaire.

La **synovite** joue un rôle important dans l'initiation et la progression de l'OA. Nos résultats préliminaires montrent que les patients atteints d'OA peuvent être divisés en 3 sous-groupes (ou pathotypes), basés sur des caractéristiques histopathologiques d'infiltration de la membrane synoviale, et ce de façon similaire aux patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (pathologie auto-immune articulaire). En particulier, plus de 50% des patients arthrosiques montrent une **accumulation de lymphocytes T et B** dans des structures particulières, semblables à celles observées dans la polyarthrite rhumatoïde. Puisque l'OA n'est pas une pathologie auto-immune, la présence de ces cellules et de ces structures est surprenante, soulevant la question du rôle de ces lymphocytes dans l'OA.

Dans ce contexte, nous souhaitons **étudier la diversité et la distribution des différentes populations de lymphocytes T et B au sein de la membrane synoviale des patients atteints d'OA**, en fonction de leur pathotype.

Cette étude sera réalisée grâce à la bio-collection de membranes synoviales de patients arthrosiques développée à RMeS, en partenariat avec le CHU de Nantes, et sera basée sur des analyses de **cytométrie spectrale**. Au cours de ce stage, nous proposons au candidat de :

- Participer à l'isolement et au marquage par anticorps fluorescents des lymphocytes, à partir d'échantillons de membranes synoviales de patients atteints d'OA
- Participer à l'acquisition de ces marquages en cytométrie spectrale
- Analyser le jeu de données obtenu afin de déterminer les différentes sous-populations de lymphocytes T et B présentes dans la membrane synoviale des patients arthrosiques, en fonction du pathotype
- Valider la localisation de ces populations au sein du tissu synovial grâce à des marquages multiples en immunofluorescence

L'ensemble de ces données permettra d'améliorer la compréhension du rôle des lymphocytes dans la pathogenèse de l'OA.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : INSERM UMR1229, RMeS, Nantes Université

N° d'équipe : équipe 2 Regos

Nom-Prénom de l'encadrant : Trichet Valérie

Courriel de l'encadrant : valerie.trichet@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Agogue Arthur

Titre du stage : BIOCOMPATIBILITE ET BIOFUNCTIONALITE D'EXOPOLYSACCHARIDES DERIVEES DE MICROALGUES DANS LA RECONSTRUCTION OSSEUSE.

Résumé du projet proposé :

Ce projet sera réalisé dans le cadre scientifique de la chaire d'application BONE HEALTH qui a pour objet la valorisation de produits extraits de différentes souches de microalgues en médecine régénérative osseuse. La régénération d'un tissu osseux implique une phase d'inflammation qui est suivie d'une phase de résorption osseuse associée à la reconstruction. Macrophages et ostéoclastes sont donc successivement impliqués pour permettre le travail de dépôt d'une matrice minéralisée par les ostéoblastes finalement. Pour évaluer la compatibilité et la fonctionnalité biologique des exopolysaccharides de microalgues, les extraits seront testés sur des monocytes en différenciation macrophagique et/ou ostéoclastique. La viabilité cellulaire sera mesurée avec un test colorimétrique, la fonction inflammatoire à l'aide de test ELISA pour quantifier certaines cytokines (IL1, IL6 et TNF α), tandis que la différenciation en ostéoclastes sera quantifiée par analyse d'image après coloration (TRAP) ou immunomarquage.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin