

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : MARTIN

Prénom : Hélène

Section CNU : 87

Grade : *Maitresse de conférences*

HDR : *oui* Date de soutenance : 21/09/2010 Discipline : *toxicologie*

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UFR Sciences de la Santé, 19 rue Ambroise Paré, 25000 Besançon

helene.martin@univ-fcomte.fr

Tel : 03 63 08 23 18

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) :

UMR 1098 RIGHT, Equipe TAI-IT

UMLP, INSERM, EFS

Directeur : Pr. Olivier Adotévi

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : Cornu

Prénom : Raphaël

Section CNU :

Grade : *CR EFS*

HDR : *non* ; *oui* Date de soutenance..... Discipline :

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UFR Santé, 19 rue Ambroise Paré, 25000 Besançon

raphael.cornu@univ-fcomte.fr

0381665557

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) :

UMR 1098 RIGHT, Equipe TAI-IT

UMLP, INSERM, EFS

Directeur : Pr. Olivier Adotévi

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu)

UMR 1098 RIGHT, Equipe TAI-IT

UMLP, INSERM, EFS

- localisation

UFR Sciences de la Santé

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

19 rue Ambroise Paré
25000 Besançon

- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu

Directeur de thèse : Dr. Hélène Martin (50%)

Co-directeur de thèse : Dr. Raphaël Cornu (50%)

- adresse courriel du contact scientifique

helene.martin@univ-fcomte.fr

- titre du projet

Développement et évaluation de thérapies à ARN innovantes dans des modèles cellulaires optimisés de stéatohépatite métabolique (MASH)

- description du projet (2 pages maximum)

La stéatose hépatique métabolique (MASLD) est caractérisée par un excès de lipides dans le foie, associé à au moins un facteur de risque cardio-métabolique, tel que le diabète de type 2 ou encore l'hypertension artérielle. Si l'accumulation de lipides se poursuit, le foie devient le siège d'une inflammation appelée hépatite et la MASLD progresse en stéatohépatite associée à un dysfonctionnement métabolique ou MASH [1] ; dans ce cas, l'inflammation ne disparaît pas, mais au contraire elle va s'aggraver avec le temps et entraîner le développement d'une fibrose du foie, voire d'une cirrhose avec le risque d'apparition d'un carcinome hépatocellulaire (CHC), cancer dont l'espérance de vie à 5 ans est en moyenne de 20% [2]. Contrairement à d'autres pathologies hépatiques, la MASH survient chez des personnes qui ne consomment pas, ou peu d'alcool [3].

La prévalence de la MASH a significativement augmenté ces dernières années, en raison de la progression de l'obésité et du diabète de type 2, dans les pays industrialisés mais aussi dans les pays en voie de développement ; cette tendance devrait se poursuivre dans les décennies à venir. De plus, la MASH reste longtemps asymptomatique, ce qui complique son diagnostic. Enfin, elle a une incidence forte sur le pronostic des patients si la maladie progresse en cirrhose ou CHC. Le traitement de la MASH a classiquement consisté en l'utilisation de médicaments hépatoprotecteurs (vitamine E, acide ursodéoxycholique...), limités en termes d'efficacité ou de sécurité. Une nouvelle approche thérapeutique a été approuvée en mars 2024 par la FDA : il s'agit du resmétirom (Rezdiffra®), agoniste sélectif oral ciblant le foie et agissant sur le récepteur de la thyrotropin-releasing hormone- β (THR- β) ; cependant un risque de toxicité hépatique après traitement a été observé, et les patients atteints de cirrhose décompensée ne peuvent l'utiliser. Dans l'attente de la commercialisation d'autres traitements en cours de développement, l'effet hépatique de certains traitements anti-diabétiques (analogues du GLP-1 ou la pioglitazone par exemple) est particulièrement étudié, la MASH et le diabète de type 2 partageant des mécanismes physiopathologiques communs [4].

Le but du projet doctoral sera de mieux comprendre les interactions cellulaires et les voies de signalisation moléculaire impliquées dans la MASH, ainsi que de développer des stratégies thérapeutiques innovantes à ARN.

Ainsi ce travail sera construit avec 3 objectifs :

Objectif 1 : Développer un modèle cellulaire de MASH en 3D, bio-imprimé et associant un système de microfluidique, pour permettre l'étude des interactions entre les différents

types cellulaires du foie (hépatocytes, macrophages et cellules stellaires du foie) et simuler le flux sanguin et l'excrétion biliaire.

Les modèles *in vitro* disponibles pour mieux comprendre les mécanismes d'action dans la MASH et la modéliser restent actuellement les monocultures en 2D [5]; cependant, elles restent des modèles simplifiés, qui ne peuvent pas reproduire fidèlement la MASH, les interactions entre les hépatocytes et les cellules non parenchymateuses du foie n'étant pas toujours représentées, de même que les interactions avec l'environnement extracellulaire [6]. Des modèles plus complexes comme les cultures en 3D qui associent plusieurs types cellulaires, permettraient de reproduire les interactions paracrines cellule-cellule et les fonctions métaboliques sur le long terme ; ils seraient plus proches de la situation *in vivo* et permettraient de mieux étudier les mécanismes d'action dans la MASH. La mise au point d'un modèle bio-imprimé incluant tous les types cellulaires du foie et leurs interactions, et permettant de mimer l'architecture du lobule hépatique serait un réel atout ; de plus, un système de microfluidique (microfluidiques perméables tapissés de cellules endothéliales sinusoidales hépatiques) permettrait de simuler le flux sanguin et l'excrétion biliaire, et d'obtenir un modèle *in vitro* pertinent et hautement reproductible [7].

Objectif 2 : Identifier de nouveaux biomarqueurs liés aux mécanismes de fibrose et à l'inflammation dans la MASH

De nombreux acteurs cellulaires (cellules de Kupffer, neutrophiles, lymphocytes Th17...) et médiateurs chimiques (TNF- α , TGF β , MCP-1, ROS, IL17...) sont impliqués dans l'activation fibrogénique des cellules stellaires hépatiques [8]. Parmi les médiateurs, le ciblage de l'IL-17 pourrait représenter un intérêt pour éviter la progression de la fibrose hépatique. En effet, des travaux ont montré une diminution de la fibrose hépatique après traitement par un anti-IL17, dans des modèles de stéatose chez la souris et dans une étude clinique menée sur 64 patients atteints de psoriasis [9]. De même, une étude pilote réalisée sur 10 patients atteints de rhumatisme psoriasique et traités pendant 3 ans par du secukinumab, un anticorps monoclonal soluble dirigé contre l'IL17, a montré un effet protecteur du traitement sur la fibrose hépatique [10]. Aussi, la protéine FAP (fibroblast activation protein) pourrait également constituer une cible thérapeutique de choix dans la fibrose hépatique. En effet, il a été montré que FAP est exprimée par les cellules stellaires hépatiques activées et que son expression est positivement corrélée avec la gravité de la fibrose hépatique, suggérant un rôle profibrosant de FAP dans les maladies hépatiques [11]. Ainsi, le ciblage de ces acteurs moléculaires pourrait nous permettre de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques de la MASH à base d'ARN (voir objectif n°3), mais un travail d'identification de nouveaux biomarqueurs liés aux mécanismes de fibrose et à l'inflammation dans la MASH reste indispensable. Une analyse en RNAseq sera mise à profit dans notre étude pour mettre en évidence d'autres biomarqueurs d'intérêt dans la MASH.

Objectif 3 : Développer et évaluer des stratégies thérapeutiques à ARN, basées sur l'utilisation de particules chargées en pARNi et/ou ARNm ciblant des acteurs moléculaires spécifiques de la MASH

Dans notre projet, nous souhaitons mettre à profit notre expérience d'encapsulation d'acides nucléiques dans des (micro ou nano) particules lipidiques, pour proposer une alternative thérapeutique innovante pour traiter la MASH. Le premier médicament à base d'ARN et utilisant des nanoparticules lipidiques (LNP) approuvé en 2018 par l'EMA et la FDA était l'Onpattro®, qui a révolutionné le traitement de l'amylose héréditaire à transthyréine (hATTR) avec de petits ARN interférents (pARNi) [12]. En 2021, les premières formulations d'ARN messagers encapsulés pour la vaccination contre le SARS-CoV-2 développées par les sociétés Moderna et BioNTech/Pfizer ont été autorisées [13]. Aussi, des équipes de recherche commencent à s'intéresser à la technologie des pARNi encapsulés dans des LNP pour le traitement de la MASH ; ainsi, Zhou *et al.* ont montré l'efficacité de pARNi dirigé

contre HMGB1, un facteur pro-inflammatoire produit par les macrophages [14]. Le développement d'une stratégie thérapeutique basée sur l'utilisation de particules chargées en cocktail de pARNi et/ou ARNm ciblant des acteurs moléculaires spécifiques déjà identifiées (IL-17, FAP...) ou de nouveaux biomarqueurs (objectif 2, identification par RNAseq), pourrait constituer une réelle avancée thérapeutique. Ces formulations seront évaluées *in vitro* sur nos modèles optimisés (objectif 1) et les formulations les plus prometteuses seront évaluées ensuite *in vivo*.

[1] Sergei, 2024, doi.org/10.3390/ijms25158462 ; [2] Golabi *et al.*, 2016, doi.org/10.1586/17474124.2016.1099433 ; [3] Sheka *et al.*, 2020, doi: 10.1001/jama.2020.2298 ; [4] Harrison *et al.*, 2023, doi.org/10.1016/j.cgh.2023.03.041 ; [5] Anfusio *et al.*, 2020, doi.org/10.1038/s41598-020-58562-x ; [6] Ramos *et al.*, 2022, doi.org/10.1016/j.isci.2021.103549 ; [7] Ali *et al.*, 2024, doi.org/10.1016/j.mtbio.2024.100991 ; [8] Giles *et al.*, 2015, doi.org/10.2174/1389450116666150531153627 ; [9] Takamura *et al.*, 2022, doi.org/10.3350/cmh.2022.0040 ; [10] Magdaleno-Tapiel *et al.*, 2021, doi.org/10.1111/dth.15065 ; [11] Kim and Seki, 2023, doi.org/10.1016/j.jcmgh.2022.12.018 ; [12] Hu *et al.*, 2020, doi.org/10.1038/s41392-020-0207-x ; [13] Jürgens *et al.*, 2023, doi.org/10.1016/j.onano.2023.100161 ; [14] Zhou *et al.*, 2022, doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.01.038.

- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)

Crédits récurrents (Université, EFS, INSERM)

- connaissances et compétences requises

Le(la) candidat(e) devra avoir de solides connaissances en biologie cellulaire et moléculaire ; une bonne connaissance du métabolisme hépatique serait un atout supplémentaire.

Il / elle devra maîtriser les techniques de culture cellulaire animale et avoir été formé(e) aux méthodes classiques de biochimie et biologie moléculaire (tests de viabilité cellulaire, tests ELISA, western blot, qPCR, microscopie...). Une expérience en technologie pharmaceutique (encapsulation, utilisation de micro/nanoparticules) serait un atout supplémentaire.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

La stéatose hépatique métabolique (MASLD) est une accumulation de lipides dans le foie associée à des facteurs de risque cardio-métaboliques comme le diabète de type 2 ; elle peut évoluer en stéatohépatite métabolique (MASH), caractérisée par une inflammation et une fibrose, pouvant conduire à la cirrhose et au cancer du foie. La MASH reste longtemps asymptomatique, rendant son diagnostic complexe. Les traitements actuels incluent des médicaments hépatoprotecteurs peu efficaces et plus récemment le resmétirom, mais dont l'usage reste limité et qui n'est pas exempt d'effets secondaires. Ce projet doctoral vise à mieux comprendre les mécanismes moléculaires ainsi que les interactions cellulaires impliqués dans la MASH et évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques innovantes à ARN ; à cet effet, un modèle *in vitro* 3D bio-imprimé de MASH sera développé et optimisé pour étudier les interactions cellulaires, pour identifier de nouveaux biomarqueurs de fibrose et d'inflammation dans la MASH, et pour explorer des stratégies thérapeutiques basées sur les pARNi et/ou ARNm encapsulés dans des (micro ou nano) particules lipidiques, et ciblant des acteurs moléculaires spécifiques de la MASH.

Metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) is characterized by an accumulation of lipids in the liver linked to cardiometabolic risk factors such as type 2 diabetes. It can progress to metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH), characterized by an important inflammation and fibrosis, potentially leading to cirrhosis and liver cancer. The increasing prevalence of MASH, driven by obesity, remains a major concern as it is often asymptomatic, complicating the diagnosis. Current treatments include hepatoprotective drugs and resmetirom, recently approved but showing limited use and side effects. This doctoral project aims to enhance the understanding of molecular mechanisms and cellular

interactions involved in MASH; moreover, new therapeutic innovative strategies using RNAs will be developed. For this purpose, a new *in vitro* 3D model of bioprinted MASH liver will be developed and optimized to study cellular interactions, to identify new biomarkers of fibrosis and inflammation in MASH, and to explore therapeutic strategies using siRNA and/or mRNA-loaded lipid (micro or nano) particles targeting specific molecular actors in MASH.

Préciser le domaine de compétence :

Biologie

Santé, médecine humaine, vétérinaire

Mots clés : foie, MASH, fibrose, inflammation, culture 3D, thérapie à ARN