

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères)

Régulation de l'adipogenèse par les endocannabinoïdes dans l'obésité et le diabète de type 2 : Conséquences sur la plasticité et la physiopathologie du tissu adipeux.

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

Directeur de thèse HDR :

Nom : **DEGRACE**

Prénom : **Pascal**

Section CNU : 66

Grade : *PR 1^{ère} classe*

HDR : *Date de soutenance 11/05/2005 Discipline : Nutrition métabolique*

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UFR SVTE, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon

pascal.degrace@u-bourgogne.fr

0380393736

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

Centre de recherche Translationnelle en Médecine moléculaire

UMR1231 INSERM-Université de Bourgogne Europe

Directeur : Pr. François Ghiringhelli

Equipe Physiopathologie des Dyslipidémies (PADYS)

Responsable d'équipe : Pr. Bruno Vergès / Tony Jourdan

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

- nom et label de l'unité de recherche

Centre de recherche Translationnelle en Médecine moléculaire

UMR1231 INSERM-Université de Bourgogne Europe

Equipe Physiopathologie des Dyslipidémies (PADYS)

- localisation

UFR SVTE, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon

Bâtiment Médecine B3, 15 boulevard Maréchal De Lattre de Tassigny, 21000 Dijon

- nom du directeur de thèse et du co-directeur

Directeur de thèse : Prof. Pascal Degrace

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.

- adresse courriel du contact scientifique
pascal.degrace@u-bourgogne.fr

- titre du projet

Régulation de l'adipogenèse par les endocannabinoïdes dans l'obésité et le diabète de type 2 : Conséquences sur la plasticité et la physiopathologie du tissu adipeux.

- Description du projet

ÉTAT DES CONNAISSANCES

Les endocannabinoïdes (ECs) régulent de nombreuses fonctions physiologiques dont certaines impliquées dans l'homéostasie énergétique. Ainsi, il est admis que le système endocannabinoïde (SEC) stimule la prise alimentaire et favorise le stockage de l'énergie *via* l'action coordonnée des ECs sur les récepteurs aux cannabinoïdes 1 (CB1R) présents dans de nombreux organes (Piazza 2017). De plus, l'obésité est associée à une hyperactivation du SEC et le blocage des CB1R par le Rimonabant (avant son retrait du marché en 2008 à cause de ses effets psychotropes) s'est révélé être une approche thérapeutique efficace pour diminuer la masse grasse et améliorer les paramètres métaboliques des patients obèses (Di Marzo 2001 ; Van Gaal 2008). Plus récemment, l'utilisation des antagonistes CB1R de 2ème génération ne franchissant pas la barrière hémato-encéphalique a permis de mettre en évidence les effets bénéfiques de l'inactivation de ces récepteurs sur des organes clés du métabolisme glucido-lipidique dont le foie, le muscle squelettique, le pancréas et le tissu adipeux (Cinar 2020). Récemment, les résultats d'un essai clinique de phase 2a ont montré l'efficacité d'un nouvel antagoniste des CB1R, le Monlunabant (INV-202), sur la perte de poids de patients obèses (Novo Nordisk).

Les dérégulations du métabolisme adipocytaire jouent un rôle central dans l'étiologie des pathologies associées à l'obésité incluant le diabète de type 2. En effet, le tissu adipeux est un organe endocrine à part entière, capable, par le biais des composés qu'il produit, d'influencer le métabolisme glucido-lipidique. Au cours de l'obésité, les capacités sécrétoires du tissu adipeux sont modifiées. Ces modifications concernent principalement la production de cytokines pro-inflammatoires et d'acides gras libres. Ces derniers sont connus pour exercer des effets délétères sur d'autres organes impliqués dans l'homéostasie énergétique et favoriser l'insulino-résistance et l'apparition du diabète de type 2. Inversement, certaines adipokines insulino-sensibilisatrices comme l'adiponectine, voient leur production réduite (Kusminski 2016).

Plusieurs études montrent que l'hypertrophie du tissu adipeux est également associée à une modification de l'activité du SEC se traduisant par une augmentation de l'expression des CB1R et/ou des concentrations en ECs dans ce tissu (Matias 2016). Par ailleurs, des travaux récents issus du laboratoire ont démontré que l'obésité seule ne suffit pas à augmenter la production des ECs. En effet, seuls les patients obèses diabétiques présentent une sécrétion significativement élevée des deux ECs majeurs, le N-arachidonoyl ethanolamide (AEA) et le 2-arachidonoylglycerol (2-AG) dans leur tissu adipeux viscéral. Le tissu sous-cutané reste, quant à lui, largement épargné par cette dérégulation (Barbosa 2026 soumis).

Les conséquences de l'augmentation du tonus endocannabinoïde dans le tissu adipeux peuvent être multiples. Ainsi, il est clairement démontré que l'activation des CB1R stimule le captage du glucose, la lipogenèse et diminue la thermogenèse (Matias 2016). Les CB1R apparaissent également impliqués dans l'altération des capacités sécrétoires du tissu adipeux rencontrée au cours de l'obésité en inhibant la production d'adipokines anti-inflammatoires et en augmentant celle d'adipokines pro-inflammatoires (Ge 2013). De plus,

les ECs produits par le tissu adipeux semblent également exercer des effets autocrines favorisant son expansion en stimulant la différenciation des préadipocytes en adipocytes matures. Toutefois, peu d'études concernent la phase d'engagement des cellules souches multipotentes vers la voie des préadipocytes, une étape clé pour la formation de nouveaux adipocytes.

OBJECTIFS

Le rôle régulateur du SEC et des CB1R sur les étapes de prolifération, différenciation et migration des cellules souches a déjà été mis en évidence dans des travaux s'intéressant au développement embryonnaire du système nerveux (Galve-Roperth 2013). A l'inverse, ces mécanismes n'ont pas été caractérisés dans le tissu adipeux. Ainsi, ce projet vise à évaluer l'impact des ECs sur la phase d'engagement des cellules progénitrices de la fraction vasculaire stromale (FVS) dans la lignée adipocytaire. Ces recherches seront menées sur des modèles murins et humains, en comparant les dépôts viscéraux et sous-cutanés tout en intégrant les différents stades de la pathologie (souris ou sujets contrôles, obèses et obèses diabétiques). L'objectif final est de vérifier l'hypothèse selon laquelle l'activation des CB1R par les ECs produits en excès par le tissu adipeux pathologique pourrait limiter le recrutement de nouveaux adipocytes, favorisant ainsi l'hypertrophie tissulaire et les altérations métaboliques associées.

MÉTHODOLOGIE

L'adipogenèse sera principalement étudiée en utilisant un modèle de primoculture de cellules de la FVS isolées à partir de tissus adipeux. Les tissus murins seront prélevés sur des souris contrôles ou soumises à un régime hyperlipidique (60% lard) de longue durée jusqu'à ce qu'elles développent un syndrome métabolique (environ 16 semaines). Les tissus humains proviendront de sujets hospitalisés pour une chirurgie viscérale, recrutés parmi des patients témoins ou obèses avec ou sans diabète de type 2. L'effet des traitements par des agonistes et antagonistes CB1R sur le degré de différenciation des cellules souches de la FVS sera évalué par des techniques histologiques et en mesurant l'expression de marqueurs. Les phénotypes cellulaires rencontrés au cours des expériences seront déterminés par cytométrie en flux. Les cellules souches adipeuses (ADSC, adipose stem cells) feront l'objet d'une analyse transcriptomique (RNAseq) à différents stades de différenciation. Parallèlement, l'état inflammatoire des adipocytes différenciés dans les différentes conditions sera caractérisé par des approches biochimiques (production d'ECs, d'adipokines et de cytokines), de cytométrie en flux (marqueurs de surfaces) et transcriptomiques.

PERSPECTIVES

Ce projet s'intègre dans un programme plus large visant à mieux caractériser les mécanismes faisant du SEC une cible thérapeutique pour la dyslipidémie liée à l'obésité et au diabète. Dans ce contexte, les données obtenues devraient nous permettre de mieux comprendre comment l'hyperactivation du SEC du tissu adipeux peut favoriser l'apparition des anomalies typiquement liées à l'obésité. En effet, nous devrions être en mesure d'émettre l'hypothèse nouvelle selon laquelle le tissu adipeux viscéral produit des ECs qui favoriseraient son hypertrophie. Au final, l'intérêt de ces résultats est de proposer l'inactivation des CB1R du tissu adipeux comme piste thérapeutique pour traiter les dérégulations métaboliques liées à l'obésité.

Bibliographie : Piazza PV. et al. Neuron 93:1252-1274, 2017. Di Marzo V. et al. Nature 410: 822-825, 2001. Van Gaal L. et al. Diabetes Care 31 Suppl 2:S229-40, 2008. Kusminski CM. et al. Nature Rev 15: 639-660, 2016. Barbosa R. et al. soumis Diabetologia 2026. Matias I. et al. Cannabis and Cannabinoid Research Vol. 1, 176-185, 2016. Ge Q. et al. Int J Obes. 37:874-880. 2013. Galve-Roperth I. et al. Prog Lipid Res. Oct;52(4):633-50. 2013

- **Financement du projet** – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)
Crédits INSERM et universitaires de l'équipe.

- **Connaissances et compétences requises**

Le(la) candidat(e) devra avoir étudié(e) la physiologie animale et avoir une bonne connaissance du métabolisme énergétique. Cette personne devra être capable de pratiquer des techniques de physiologie (prélèvement de tissus, perfusion d'organes, cellules isolées...), avoir été formée à la culture cellulaire et à la pratique de techniques de biochimie et de biologie moléculaire courantes (activité enzymatiques, PCR, western blotting). Une connaissance de la biologie du système endocannabinoïde et de la biochimie des lipides en général serait un plus.

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

Résumé

Le tissu adipeux (TA) est un important producteur d'endocannabinoïdes (ECs) exerçant des effets exocrines et autocrines. Ainsi, l'activation des récepteurs aux cannabinoïdes 1 (CB1R) dans le TA par les ECs est associée à son expansion et au développement de désordres métaboliques. Des travaux récents du laboratoire montrent que l'insulinorésistance, plutôt que l'adiposité seule, semble être responsable de la surproduction d'ECs spécifique au dépôt dans le TAV. Cependant, l'impact de ces ECs sur l'engagement des cellules souches vers la lignée adipocytaire dans les différents dépôts adipeux (viscéral et sous-cutané) reste mal caractérisé.

Ce travail vise à étudier l'effet de l'activation du SEC sur l'adipogenèse des cellules souches du TA afin de valider l'hypothèse centrale du projet selon laquelle un excès d'ECs limiterait le recrutement de nouveaux adipocytes, favorisant ainsi une hypertrophie tissulaire délétère. Pour tester ce mécanisme, nous utiliserons un modèle de primoculture de cellules souches de la fraction vasculaire stromale issues de tissus humains et murins, qui seront exposées à des agonistes ou antagonistes CB1R. L'engagement et la différenciation cellulaire seront estimés en combinant des analyses de cytométrie en flux, biochimiques, histologiques et transcriptomiques (RNAseq). Au final, l'intérêt de ces recherches est de proposer l'inactivation des CB1R du tissu adipeux comme piste thérapeutique pour traiter les dérégulations métaboliques liées à l'obésité.

Abstract

A positive correlation has been established between circulating endocannabinoids (ECs) and visceral fat indicating that adipose tissue (AT) is a significant producer of ECs. These ECs may act in an autocrine and paracrine manner, activating cannabinoid 1 receptors (CB1R). CB1R activation is known to promote fat accumulation and contribute to the development of obesity-related metabolic diseases. Recent works from our laboratory indicated that insulin resistance, rather than adiposity alone, appears as the primary driver of depot-specific ECs overproduction in visceral AT. However, the influence of ECs on the commitment of adipose tissue stem cells to the adipocyte lineage remains unclear and warrant further investigation. Tissues will be collected from healthy, obese or obese diabetic mice and subjects. To investigate the potential role of ECs on AT remodeling, AT stem cells will be exposed to the CB1R agonists or antagonists. Commitment of adipose stem cells from the vascular stromal fraction to adipocytes will be assessed using spectral flow cytometry, histologic and transcriptomic (RNAseq) methods. This work should help identify VAT as a critical site of ECS remodeling in diabetes and to propose targeting the visceral ECS as a therapeutic strategy for type 2 diabetes.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous :

2 choix possibles maximum –les intitulés sont ceux d'ABG),

Ex : vous ne pouvez pas sélectionner uniquement informatique lorsqu'il est indiqué informatique, électronique :

- **Biologie**
- **Santé, médecine humaine, vétérinaire**

Indiquez quelques mots clés concernant votre sujet) :

Obésité / Diabète de type 2 / Système endocannabinoïde / Tissu adipeux / Adipogenèse /
Cellules souches adipeuses