

Sujet de thèse: Rôles de la signalisation thyroïdienne dans la plasticité des cellules souches neurales et impact de sa perturbation au cours du développement chez la souris et le Xénope.

Directeur de thèse:

Demeneix

barbara.demeneix@mnhn.fr

Co-directeur(s) titulaire(s) HDR:

REMAUD (engagée à passer l'HDR avant fin 2019)

Co-directeur(s) non-titulaire(s) HDR:

FINI (engagé à passer l'HDR avant fin 2019)

Equipe:

Intégration des réponses transcriptionnelles induites par les hormones thyroïdiennes et leurs récepteurs

Publications récentes des directeurs de thèse avec leurs anciens doctorants:

Mughal BB, Leemans M, Spirhanzlova P, Demeneix B, Fini JB. *Sci Rep.* 2018 Jan 11;8(1):496.

Remaud S, Ortiz FC, Perret-Jeanneret M, Aigrot MS, Gothié JD, Fekete C, Kváta-Papp Z, Gereben B, Langui D, Lubetzki C, Angulo MC, Zalc B, Demeneix B. *eLife.* 2017 Sep 6;6:6.

Gothié JD, Sébillot A, Luongo C, Legendre M, Nguyen Van, Le Blay K, Perret-Jeanneret M, Remaud S, Demeneix B. *Molecular Metabolism* 2017 Nov;6(11):1551-1561.

Mughal BB, Leemans M, Lima de Souza EC, le Mevel S, Spirhanzlova P, Visser TJ, Fini JB, Demeneix BA. *Endocrinology* 2017 Aug 1;158(8):2694-2705.

Fini JB, Mughal BB, Le Mével S, Leemans M, Lettmann M, Spirhanzlova P, Affaticati P, Jenett A, Demeneix BA. *Science Reports* 2017 Mar 7;7:43786.

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées:

Les hormones thyroïdiennes (HTs) sont essentielles au développement, à la maturation et à la plasticité du cerveau des vertébrés.

Nous avons montré récemment chez la souris adulte que les HTs affectent différemment le destin des cellules souches neurales (CSNs) selon qu'elles s'engagent vers un neurone ou vers un oligodendrocyte, cellule gliale du système nerveux central qui génère la gaine de myéline autour des neurones. Les HTs favorisent le destin neural des CSNs (Lopez-Juarez et al, 2012), notamment via l'activation du métabolisme mitochondrial (Gothié et al, 2017). En revanche, une fenêtre temporelle sans HTs favorise la génération de nouveaux oligodendrocytes à partir des CSNs adultes (Remaud et al, 2017). Cependant, le rôle des HTs dans la génération des neurones et des glias au cours du développement post-natal chez la souris est peu connu. Notre hypothèse est que le pic précoce en HTs - deux semaines après la naissance (post natal day, PND 15) (Hadj-Sahraoui et al, 2000) - réorganise les capacités neurogéniques et gliogéniques du cerveau du souriceau.

Lors du développement précoce et de l'organogenèse du xénope, nous avons confirmé le rôle crucial des HTs dans l'engagement et dans la différenciation neuronale (Fini et al, 2012). De plus, nous avons montré qu'une mixture de molécules chimiques, constituée des mêmes molécules chimiques que celles détectées dans le liquide amniotique des êtres humains (phénol, phtalates, métaux lourds, pesticides), altère la balance entre la neurogenèse et l'oligodendrogenèse (Fini et al, 2017), suggérant que les perturbateurs endocriniens (PEs) affectent par ce biais le développement cérébral harmonieux des vertébrés.

L'objectif de ce projet est de comprendre les mécanismes sous-jacents à la signalisation thyroïdienne dans la mise en place du destin des CSNs au cours du développement et ce, chez deux espèces de vertébrés (la souris et le Xénope). Tout d'abord, le candidat étudiera comment la disponibilité en HTs est localement régulée au sein des niches neurogéniques et comment les HTs modulent la balance entre neurogenèse et oligodendrogenèse. Enfin, l'impact des xénobiotiques environnementaux sur la disponibilité en hormones et les conséquences sur la neurogenèse et l'oligodendrogenèse seront également étudiés afin d'étudier le risque potentiel des PEs sur le développement du cerveau des vertébrés.

Avec ces objectifs, le/la candidat(e) sera amené(e) à réaliser des expériences in vivo et vitro. Tout d'abord, chez le souriceau, le/la candidat(e) analysera in vivo et in vitro (test des neurosphères) les capacités neurogéniques et gliogéniques (activité mitotique, ratio neurone/glie) de la SVZ au cours du développement avant (PND 5) et après (PND 20) le pic aux HTs (PND 15) par immunohistochimie (IHC). En particulier, la cinétique d'expression des différents composants de la signalisation thyroïdienne (récepteurs, transporteurs, désiodases) sera analysée au cours des trois premières semaines du développement post-natal par IHC et PCR quantitative en temps réel. Enfin, les effets d'un hypothyroïdisme - appliqué entre PND1 et PND20 - sur la neurogenèse et la gliogenèse seront analysés. Le ratio neurone/glie sera en particulier quantifié par IHC et par tri cellulaire par cytométrie en flux (FACS). Le candidat identifiera les réseaux de gènes régulés par le pic d'HTs en période post-natale par une approche transcriptomique à large échelle (RNAseq). Les différents types cellulaires (CSNs, progéniteurs neuronaux et glias) seront isolés par FACS avant (PND5) et après (PND 20) le pic d'HTs circulantes. Les gènes clés différenciellement exprimés seront validés par qPCR et par hybridation in situ fluorescente.

Chez le xénope, deux périodes de prolifération des précurseurs neuronaux ont été identifiées (24h et 72h post fécondation). Le rôle des HTs sur ces événements clés de la neurogenèse n'est pas connu et sera investigué par dosages des HTs (T3 et T4) au sein de la niche ou par utilisation d'anticorps spécifiques anti T4 et anti T3.

Dans une seconde partie, le/la candidat(e) analysera les conséquences d'une exposition aux PEs sur le développement précoce du cerveau. Les souriceaux seront exposés avec la mixture de PEs pendant la lactation (PND1-PND20). L'impact des PEs sur le ratio neurone/glie sera étudié à PND20 par IHC et FACS. Nous utiliserons également le modèle amphibien et la possibilité de suivre l'expression de transgène fluorescent pendant la période de quasi transparence du développement embryonnaire. Une lignée marquant spécifiquement les cellules souches neurales sera utilisée, la différenciation des cellules sera évaluée dans les différentes conditions. D'autres lignées exprimant spécifiquement des marqueurs fluorescents dans les neurones ou dans les oligodendrocytes seront utilisées pour confirmer ces résultats et afin de suivre les effets à court et à long terme d'une exposition précoce à un mélange de perturbateurs.

Stratégie de publication:

Les résultats obtenus par croisement des données obtenues chez la souris et le xénope permettront:

- d'identifier lors du développement précoce, les différentes populations neurales (cellules souches, progéniteurs glias et neuronaux) co-existantes au sein des niches neurogéniques qui sont sensibles aux hormones thyroïdiennes et aux perturbateurs endocriniens.

- de déterminer in vivo et in vitro les conséquences cellulaires et moléculaires d'une exposition précoce des CSNs à un mélange de PEs en présence ou non d'HTs.

Ce projet devrait aboutir au minimum à deux publications à fort impact et à des communications lors de congrès nationaux et internationaux.

Réorientation possible du sujet si échecs:

Nous avons montré que les HTs favorisent le destin neuronal des CSNs adultes chez la souris (Lopez-Juarez, 2012; Remaud et al, 2017; Gothié et al, 2017). Nous avons montré que la perturbation de la signalisation thyroïdienne par les PEs influe sur la neurogenèse (Fini et al, 2017). Nous possédons tous les outils techniques (neurosphères chez la souris, lignées de Xénopes transgéniques). Ainsi, le projet est suffisamment solide avec un risque faible de réorientation. Cependant, en cas de nécessité, il sera possible de simplifier les expériences et de ne considérer que l'impact joué par les PEs et non l'interaction PE+HT. De plus, si l'exposition au cours de la lactation chez la souris ne donne pas d'effets convaincants, nous pourrons tester l'impact d'une exposition encore plus précoce, lors du développement embryonnaire.

Faisabilité sur 3 ans (échancier):

Les 18 premiers mois seront dédiés à l'étude des rôles joués par les HTs sur le développement de la SVZ murine en période post-natale. Des approches cellulaires et moléculaires seront mises en place in vivo et in vitro. En parallèle, le candidat étudiera chez le xénope l'influence des HTs sur les événements de neurogenèse précoces.

Lors de la 2e année, les conséquences sur la neurogenèse d'une exposition à des PEs seront étudiées (souris et xénope). Des lignées transgéniques rapportrices de cellules pluripotentes (psox3:YFP) et des lignées permettant d'identifier les cellules différenciées du système nerveux (NbT-DsRed et MBP-GFP marquant respectivement les neurones et les oligodendrocytes) seront utilisées chez le xénope.

La 3e année sera consacrée essentiellement à la valorisation des données et à la rédaction du manuscrit de thèse.

Profil du candidat recherché:

Le candidat doit avoir de solides connaissances en biologie cellulaire et/ou moléculaire et en biologie animale. Une expérience de travail sur des modèles animaux (études in vivo) et/ou en culture cellulaire (études in vitro) sera appréciée. Enfin, le candidat devra faire preuve de motivation quant à l'utilisation d'outils bioinformatiques afin de réaliser des études comparatives.