

Propositions de sujets de MFE – IRIBHM – GhoPaT group – Faculté de Médecine

<https://iribhm.org/ghopat-gpcrs-in-homeostasis-and-pathology/>

1. Développement de méthodes computationnelles et expérimentales pour prédire et caractériser des couples ligand récepteur olfactif (collaboration GHoPaT & 3BIO-Bioinfo).

Du point de vue moléculaire, l'olfaction présente une très grande complexité et très peu d'outils computationnels prédictifs ont été développés dans ce domaine. Le système moléculaire sous-jacent à la perception des odeurs a été découvert il y a une trentaine d'années seulement. Le système olfactif s'appuie sur des récepteurs protéiques exprimés par des neurones olfactifs. Ces récepteurs olfactifs appartiennent à la famille des récepteurs membranaires couplés aux protéines G (GPCR). Les relations entre molécules odorantes, récepteurs olfactifs ciblés et perception de l'odeur sont complexes et encore peu connues. En outre, il a été montré que certains récepteurs olfactifs sont exprimés dans d'autres tissus que l'épithélium olfactif et peuvent présenter un rôle physiologique ou potentiellement thérapeutique.

Ce projet vise à mettre en place une nouvelle ligne de recherche collaborative qui mêle approches computationnelles et expérimentales dans le domaine des récepteurs olfactifs. Nous souhaitons développer :

- Des approches d'intelligence artificielle (IA) (apprentissage automatique et apprentissage profond-deep learning), permettant (1) de prédire le ou les récepteurs olfactif(s) ciblé(s) par une molécule odorante, et (2) de concevoir de novo une molécule capable d'activer un récepteur olfactif donné (Equipe de D. Gilis, 3BIO-Bioinfo)
- Un pipeline en laboratoire permettant d'analyser expérimentalement les interactions ligand-récepteur olfactif et de caractériser les conséquences fonctionnelles de ces interactions (activation ou inactivation du récepteur). (Equipe I. Langer, IRIBHM-GHoPaT)

Techniques utilisées : culture cellulaire, tests fonctionnels, études de liaison...

Contact : Ingrid Langer, IRIBHM-Campus Erasme, Ingrid.Langer@ulb.be

2. Décryptage du rôle complexe de la voie VIP dans l'homéostasie et les maladies de la muqueuse colique.

Le Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP) et le Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) sont deux neuropeptides qui régulent de nombreuses fonctions physiologiques telles que le développement, la croissance, les rythmes circadiens, le tonus des muscles lisses, les sécrétions endocrines et exocrines. Leurs effets sont médiés par trois GPCR largement exprimés dans l'organisme : VPAC1, VPAC2 et PAC1. Dans l'intestin, VIP, via VPAC1, régule les sécrétions d'eau et d'électrolytes ainsi que les contractions des muscles lisses intestinaux. Le VIP régule également le développement et l'homéostasie de la barrière intestinale. De plus, le VIP et le PACAP ont été impliqués dans la régulation de la réponse immunitaire et la carcinogenèse.

Les maladies chroniques de l'intestin et les cancers sont généralement multifactoriels, incluant un dysfonctionnement et une communication dérégulée entre les différents compartiments cellulaires. Par conséquent, la compréhension des voies de signalisation et des régulations micro environnementales, qui orchestrent les conditions homéostatiques et pathologiques dans le tissu épithélial, est une étape clé pour la découverte de nouveaux outils diagnostiques et thérapeutiques et répondre à un besoin médical non satisfait.

L'objectif principal de notre projet est de déchiffrer les mécanismes moléculaires responsables du rôle complexe de la voie VIP dans l'homéostasie et les maladies de la muqueuse colique en utilisant des organoïdes dérivés de cellules souches adultes comme modèles de maladies. Nous visons à caractériser la contribution précise des différents acteurs de la voie VIP tant au niveau des cellules épithéliales que mésenchymateuses en combinant des approches transcriptomiques et protéomiques.

Techniques utilisées : culture cellulaire (cultures primaires de fibroblastes et organoïdes), études transcriptomiques (RT-qPCR, RNA-seq), western blot, immuno histochimie/fluorescence...

Contact : Ingrid Langer, IRIBHM-Campus Erasme, Ingrid.Langer@ulb.be

3. Dissection des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la régénération épithéliale digestive Trop2-dépendante

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont caractérisées par l'accumulation de cellules inflammatoires dans la sous-muqueuse et de sévères lésions épithéliales, portant au développement d'ulcères persistants. Des études récentes ont mis en évidence l'importance des cellules épithéliales pour une restauration efficace des muqueuses et la rémission à long-terme dans ces maladies chroniques. Il apparaît donc essentiel de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la régénération épithéliale digestive en utilisant des modèles expérimentaux de MICI, afin de pouvoir dans l'avenir améliorer la réparation des muqueuses chez les patients souffrant de MICI. Notre groupe a montré que l'induction de lésions dans le tube digestif adulte murin s'accompagne de l'activation d'un programme génétique de dé-différentiation partiel dans l'épithélium portant à l'apparition de cellules en régénération de type fœtal qui sont caractérisées par l'expression d'un marqueur de surface cellulaire nommé Trop2. Cette molécule, capable de traduire différents signaux cellulaires, a été proposée comme marqueur pronostic dans le cancer de l'estomac et le colon, mais n'a pas encore été étudié dans le contexte des MICI.

Le projet actuel a pour but d'étudier en détail le rôle de Trop2 dans la régénération dans un modèle murin, en s'intéressant plus spécifiquement au colon, particulièrement affecté dans les MICI. La dynamique cellulaire liée à la régénération Trop2-dépendante, après induction de dommages épithéliaux non-léthaux pour l'animal, sera étudiée par séquençage d'ARN (global ou de cellules uniques) De plus, la fonction éventuelle de signalisation du marqueur Trop2 dans la régénération sera analysée lors d'études de perte de fonction et gain de fonction in vivo et en culture d'organoïdes ex vivo.

Techniques utilisées : culture cellulaire (primocultures d'organoïdes coliques murins), analyse de tissus murins, études transcriptomiques (RT-qPCR, RNA-seq), western blot, immuno histochimie/fluorescence.

Contact : Marie-Isabelle Garcia, IRIBHM-Campus Erasme, Marie.Garcia@ulb.be

4. Régulation de la libération de sérotonine dans le colon médiée par les récepteurs olfactifs: étude des mécanismes moléculaires mis en jeu en conditions d'homéostasie et pathologiques

L'épithélium gastrointestinal joue un rôle endocrine important, capable de détecter nutriments et métabolites microbiens tels que les acides gras à chaîne courte (désignés SCFA). Cette fonction sensorielle est exercée par les cellules entéroendocrines, représentées par une multitude de sous-types, chacun étant caractérisé par la synthèse d'un panel d'hormones définies. Le sous-type le plus abondant, les cellules entérochromaffines (EC), produit plus de 90 % de la sérotonine (5-HT) de l'organisme entier. Outre son rôle dans le métabolisme global, 5-HT régule localement les fonctions digestives. Les SCFA, générés par le microbiote, font partie des signaux chimiques stimulant la synthèse et la sécrétion de 5-HT par les EC. Quatre récepteurs couplés aux protéines G reconnaissent les SCFA comme ligands naturels, Ffar2/Gpr43, Ffar3/Gpr41 et les récepteurs olfactifs Olfr78/Olfr558 (orthologues humains OR51E2/OR51E1). Nos données récentes indiquent que les récepteurs aux SCFA sont co-exprimés dans les EC du colon et que Olfr78 régule la différenciation de ces cellules ainsi que l'expression de Olfr558 dans ces dernières. L'objectif est de comprendre les mécanismes par lesquels les récepteurs des SCFA, potentiellement liés à des voies de signalisation opposées, peuvent coordonner la libération de 5-HT dans le colon. Pour cela, le phénotype de souris déficientes pour Olfr558 dans l'épithélium intestinal sera étudié en conditions d'homéostasie. De plus, une dérégulation des EC étant rapportée dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales, le rôle de Olfr78 et Olfr558 dans les EC sera analysé dans un modèle murin de colite induite par le sodium dextran sulfate. Les mécanismes associés à la synthèse et sécrétion de 5-HT après stimulation par les SCFA seront investigués dans des cultures d'organoides de colon. A terme, ce projet contribuera à déterminer si ces récepteurs olfactifs représentent de réelles cibles thérapeutiques pour les pathologies digestives humaines.

Techniques utilisées : culture cellulaire (primocultures d'organoides coliques murins), analyse de tissus murins, études transcriptomiques (RT-qPCR, RNA-seq), western blot, immuno histochimie/fluorescence, tests ELISA...

Contact : Marie-Isabelle Garcia, IRIBHM-Campus Erasme, Marie.Garcia@ulb.be

5. Rôle de la chémérine dans les uvéites auto-immunes.

Les uvéites auto-immunes (UA) sont des maladies inflammatoires non infectieuses de la rétine qui peuvent entraîner une déficience visuelle grave. L'apparition des UA est liée à une réponse immunitaire aberrante médiée par des lymphocytes T dirigés contre des antigènes rétiniens. Le traitement actuel de l'UA consiste en l'administration de corticostéroïdes et d'immunosuppresseurs, cependant, ces traitements ont des effets indésirables. Par conséquent, une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires qui sous-tendent l'apparition de l'UA est nécessaire pour identifier de nouveaux acteurs clés et développer des thérapies alternatives ou complémentaires pour le traitement de l'UA. L'objectif de ce projet de recherche est d'étudier le rôle du système de la chémérine dans l'UA en utilisant un modèle murin d'uvéite auto-immune non infectieuse (EAU) et des souris knock-out pour l'expression de la chémérine et de ses récepteurs. La chémérine est une petite cytokine chimiotactique identifiée au laboratoire. Elle se lie à trois récepteurs différents -CMKLR1, GPR1 et CCRL2- appartenant à la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR). Les GPCR constituent des cibles thérapeutiques intéressantes et plus de 30% des médicaments actuellement sur le marché ciblent des GPCR. Des expériences préliminaires menées au laboratoire ont montré que des souris dépourvues de chémérine ou de récepteur CMKLR1 développaient des signes cliniques plus graves d'UA. Ces résultats montrent que le système de la chémérine joue bien un rôle dans le développement des UA et que le système chemerine pourrait servir de cible thérapeutique. Nos données suggèrent également que l'aggravation de l'UA est due à une réponse immunitaire exacerbée conduisant à la production de lymphocytes T plus agressifs. L'objectif de ce projet est de s'appuyer sur ces résultats préliminaires et d'identifier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent le développement accru des UA chez les souris KO et d'étudier le rôle des autres composants du système de la chémérine dans le développement de cette maladie. Ce projet permettra de mieux comprendre la contribution de l'ensemble du système de la chémérine dans le développement de l'UA et de déterminer si les récepteurs de la chémérine pourraient constituer des cibles intéressantes pour le développement de nouveaux médicaments.

Techniques utilisées : manipulation de souris, prélèvement de tissus et d'organes. Analyses des populations immunitaires par cytométrie de flux (FACS) et immunofluorescence. Séquençage ARN et RT-qPCR.

Contact : Jean-Yves Springael, IRIBHM-Campus Erasme, Jean-Yves.Springael@ulb.be

6. Biais de signalisation chez les GPCRs: Etude par biosenseurs BRET des interactions avec les arrestines

La famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs) représente une des plus grandes familles de protéines présentes à la surface cellulaire et ces récepteurs représentent la cible d'environ 40% des médicaments actuellement sur le marché. Ces dernières années, un nouveau paradigme a émergé selon lequel les GPCR peuvent adopter des conformations différentes associées chacune à l'activation de voies de signalisation en aval bien spécifiques. Ce phénomène appelé « biais ou sélectivité de signalisation » peut être induit par la liaison de ligands bien spécifiques (ligands biaisés) ou résulter de propriétés intrinsèques aux récepteurs (récepteurs biaisés). Ce nouveau paradigme devrait permettre à l'avenir d'identifier de nouveaux médicaments activant seulement certaines voies de signalisation à action bénéfique tout en laissant inactives les voies de signalisation associées à des effets indésirables. Une première molécule biaisée ciblant les récepteurs aux opiacés a déjà été approuvée en 2021 par la Food and Drug Administration et est actuellement utilisée comme analgésique présentant moins d'effets indésirables que la morphine. La compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires à la base de ce biais de signalisation constitue une question centrale dans le domaine des GPCR. Ce projet de recherche s'inscrit dans ce cadre général et a pour but d'étudier une famille de récepteurs aux chimiokines (Atypical ChemoKine Receptor ou ACKR) naturellement biaisés vers l'activation des arrestines. Contrairement à leur homologues conventionnels, ces récepteurs n'activent pas ou peu la voie de signalisation dépendante des protéines G mais active de manière efficace la voie de signalisation dépendant des arrestines. De plus en plus de données de la littérature montrent que ces récepteurs jouent un rôle important dans de nombreuses maladies dont l'inflammation et les cancers mais leur mode de signalisation est encore loin d'être bien compris¹. Le projet aura pour but d'étudier la sélectivité de signalisation de ces récepteurs en utilisant une technologie reposant sur l'utilisation de biosenseurs BRET permettant de mesurer spécifiquement l'activation des protéines G et arrestines². Actuellement, une dizaine de biosenseurs est disponible au laboratoire pour le criblage. Les résultats obtenus seront ensuite validés en mesurant les cascades cellulaires spécifiquement activées.

Techniques utilisées : culture de cellules recombinantes et de leucocytes, techniques de base en biologie moléculaire et cellulaire, purification de cellules immunitaires à partir prélèvements sanguins, BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer), FACS.

Contact : Jean-Yves Springael, IRIBHM-Campus Erasme, Jean-Yves.Springael@ulb.be

References:

Tophy et al. "Atypical chemokine receptors: emerging therapeutic targets in cancer" Trends Pharmacol Sci 2022 43(12):1085-1097

Degroot, Lepage, Parmentier and Springael., "The Atypical Chemerin Receptor GPR1 Displays Different Modes of Interaction with β -Arrestins in Humans and Mice with Important Consequences on Subcellular Localization and Trafficking". Cells. 2022 Mar 18;11(6):1037.