# Proposition de sujet de thèse CNRS-L/UPD

# 2017-2018

*CANA-CNRS pour la recherche marine au Liban*

Dans le cadre de l'accord entre le Conseil National de la Recherche Scientifique de la République Libanaise (CNRS-L) et l'Université Paris Descartes (UPD) pour le co-financement des thèses de doctorat dans des thématiques d'intérêt commun, des contrats de recherches doctorales pour l'année 2017-2018 seront mis en place. Ces thèses sont proposées conjointement par un laboratoire de recherche de l'UPD et un laboratoire de recherche libanais dans le cadre d'une convention de co-tutelle ou de co-direction. Ainsi, les équipes souhaitant proposer des thèses de doctorat pour l'année 2016-2017 sont priées de compléter ce formulaire de proposition de sujet de thèse et de l'envoyer par courriel avant le 25 mai 2017 à l'adresse suivante : tamara.elzein@cnrs.edu.lb. Les sujets retenus seront diffusés pour l'appel à candidature et la sélection finale des lauréats se fera par un comité mixte des deux institutions. **Il est à noter que le laboratoire libanais partenaire s'engage à verser durant les 3 ans de thèse 3000 euros par an comme contribution annuelle à la bourse accordée au candidat retenu.**

Pièces à joindre :

- CV du co-directeur libanais
- CV du co-directeur français

# II. Fiche de Renseignements sur le laboratoire d'accueil au Liban

Université ou centre de recherche : **Université Libanaise – Faculté des Sciences**

Laboratoire d'accueil : **Laboratoire « Experimental and Computational Materials and Molecules - EC2M »**

Nom du Directeur du laboratoire : **Pr. Roland Habchi**

Adresse : **Université Libanaise – Faculté des Sciences II – Campus Fanar – Jdeidet, P.O. Box 90656 - Lebanon**

Ville : **Fanar**

Tél./Fax/Mél : 009613985843 / rhabchi@ul.edu.lb

Faculté ou organisme auquel est affilié le laboratoire d'accueil : **Faculté des Sciences II et PR2N – Plateforme de Recherche - Fanar**

Nom du Directeur de thèse : **Dr. Frédéric Harb**

Le Directeur de thèse fait-il partie du laboratoire d'accueil : ■ Oui / □ Non

Si non, précisez son rattachement et ses coordonnées :

- Principaux thèmes de recherche de l'équipe où sera effectué le travail de thèse :
  - Caractérisation biophysiques des composants de la membrane cellulaire (diffusion des phospholipides et leur transition de phase, insertion des protéines et leur diffusion)
  - Electrophorèse et mobilité électrophorètique des protéines membranaires
  - Interaction des phospholipides membranaires avec des nanoparticules
  - Interaction des phospholipides d'une membrane lipidique supporté avec le support (mimant le cytosquelette) et l'effet de cette interaction sur la diffusion

- Liste des publications récentes de l'équipe (pertinentes au sujet proposé) :

  - Effect of Ionic Strength on Dynamics of Supported Phosphatidylcholine Lipid Bilayer Revealed by FRAPP and Langmuir–Blodgett Transfer Ratios. F. Harb & B. Tinland. **Langmuir**, 2013, **29** (18), pp 5540

  - Ripple formation in unilamellar supported bilayers in water revealed by FRAPP. F. Harb, A. Simon & B. Tinland **Eur. Phys. J. E** (2013) **36**: 140

  - Charged particles interacting with a mixed supported lipid bilayer as a biomimetic pulmonary surfactant B. Munteanu, F. Harb, J. P. Rieu, Y. Berthier, B. Tinland and A. -M. Trunfio-Sfarghiu **Eur. Phys. J. E** (2014) **37**: 72

  - Nanoroughness Strongly Impacts Lipid Mobility in Supported Membranes. F. Blachon,

F.Harb, B. Munteanu, A. Piednoir, R. Fulcrand, T. Charitat, G. Fragneto, O. Pierre-Louis, B. Tinland, J.P. Rieu. **Langmuir**, **2017**, *33* (9), pp 2444–2453 **DOI:** 10.1021/acs.langmuir.6b03276

- Understanding biological molecules behavior using Fluorescence Recovery After Photobleaching. F.Harb. **Encyclopedia of analytical Chemistry** (Accepted April 2017)

La thèse sera-t-elle effectuée en co-tutelle ou co-direction: **La thèse sera effectuée en co-direction**

# III. Fiche de Renseignements sur le laboratoire d'accueil à l'UPD

Laboratoire d'accueil : **INSERM UMR-S 1124 Pharmacologie, Toxicologie et Signalisation cellulaire**

Nom du Directeur du laboratoire : **Prof. Robert BAROUKI**

Adresse : **Faculté des Sciences Fondamentales et Biomédicale, 45 rue des Saints-Pères**

Code postale-Ville : **75270 Paris Cedex 06**

Tél./Fax/Mél : **33 (0)1 42 86 20 75**

Ecole doctorale auquel est affilié le laboratoire d'accueil : **ED MTCI n°563**

Nom du Directeur de thèse : **Prof. Sophie BERNARD**

Le Directeur de thèse fait-il partie du laboratoire d'accueil : ■ Oui / □ Non

**Equipe 8 : Nouvelles thérapies de la myélinisation**

Si non, précisez son rattachement et ses coordonnées :

- Principaux thèmes de recherche de l'équipe où sera effectué le travail de thèse :
- Rôle des voies de signalisation Wnt et LXR dans la myélinisation et la remyélinisation
- Rôle des oxystérols dans la myélinisation et la remyélinisation : implication dans la sclérose en plaques et le traumatisme cérébral
- Rôle du facteur de transcription RIP140 dans le processus de myélinisation
- Impact de l'anxiété et la dépression chez les adolescents sur la myélinisation

- Liste des publications récentes de l'équipe (pertinentes au sujet proposé) :
- *Shackleford GG*, Grenier J*, Abi Habib W, Massaad C, Meffre D.* Liver X Receptors differentially modulate central myelin gene mRNA levels in a region-, age- and isoform-specific manner. **J Steroid Biochem Mol Biol.** 2017 May;169:61-68.

- *Hichor M, Sampathkumar NK, Montanaro J, Borderie D, Petit PX, Gorgievski V, Tzavara ET, Eid AA, Charbonnier F, Grenier J, Massaad C.* Paraquat Induces Peripheral Myelin Disruption and Locomotor Defects: Crosstalk with LXR and Wnt Pathways. **Antioxid Redox Signal.** 2016 Dec 19.
- *Meffre D, Shackleford GG, Hichor M, Gorgievski V, Tzavara ET, Trousson A, Ghoumari AM, Deboux C, Nait-Oumesmar B, Liere P, Schumacher M, Baulieu EE, Charbonnier F, Grenier J and Massaad C.* Liver X Receptors alpha and beta promote myelination and remyelination in the cerebellum. **PNAS**. 2015 Jun 16;112(24):7587-92
- *Shackleford GG, Makoukji J, Grenier J, Liere P, Meffre D*, Massaad C.* Differential regulation of Wnt/beta-catenin signaling by Liver X Receptors in Schwann cells and oligodendrocytes. **Biochem Pharmacol**. 2013 Mar 13. 2952(13)00163-9.

# IV. Sujet de thèse

*A faire signer obligatoirement par tous les co-directeurs*

## IV.1. Implication des LXRs dans la myélinisation du système nerveux périphérique

*La thèse fait-elle partie d'un projet de recherche financé par le CNRS-L : □ Oui / ■ Non

Si oui, précisez :

*La thématique sous laquelle s'inscrit la thèse fait-elle partie des priorités du CNRS-L pour l'année 2017-2018 (voir Annexe) : ■ Oui / □ Non

Si oui, précisez (possibilité de choisir plus qu'une) : Biomedical Engineering, Molecular and Cellular Biology

Si non, définir une: Biophysique

## IV.2. Résumé (ne pas dépasser 200 mots)

La thèse porte sur l'étude de l'implication des récepteurs LXRs dans la myélinisation du système nerveux périphérique. Nous utiliserons un modèle de souris invalidées pour ces récepteurs dans les cellules de Schwann et nous analyserons la myélinisation *ex vivo*, sur des fibres issues de leurs nerfs sciatiques. Nous mettrons en œuvre une approche pluridisciplinaire pour caractériser les atteintes myéliniques engendrées par l'invalidation des LXRs, à la fois sur un plan structural (micro-diffraction X, microscopies électronique et à force atomique) et biochimique (imagerie par spectroscopies infrarouge et masse). Les déficits moteurs des souris seront analysés en réalisant une série de tests comportementaux. Leur caractérisation phénotypique sera complétée par une étude électrophysiologique qui permettra de mesurer la perte de l'intégrité fonctionnelle de leurs nerfs *in vivo*.

La question sera aussi abordée *in vitro* pour étudier l'effet des oxystérols, qui sont des agonistes des récepteurs LXRs, sur la migration, la prolifération et la différenciation des cellules de Schwann. Nous développerons un dispositif microfluidique de co-cultures pour étudier les interactions entre une cellule de Schwann et un axone isolé et analyser l'effet des oxystérols sur la mise en place de la gaine de myéline.

## IV.3. Contexte et problématique (ne pas dépasser 200 mots)

La gaine de myéline est riche en lipides et notamment en cholestérol[1]. Celui-ci exerce des effets pléiotropiques sur le fonctionnement du système nerveux et peut être converti en composés neuroactifs, principalement des hormones stéroïdes et des dérivés oxydés, les oxystérols. Ces derniers se lient et activent leur récepteur nucléaire LXR (Liver X Receptor) qui existe sous deux isoformes[2] : LXR$\alpha$ et LXR$\beta$. Les LXRs forment des hétérodimères avec le RXR (Retinoic X Receptor) et régulent l'expression de gènes cibles en se liant à des éléments de réponses spécifiques au niveau des promoteurs.

Les oxystérols et leurs récepteurs LXRs sont donc impliqués dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol, mais aussi dans l'inflammation et dans la pathogénèse de nombreuses maladies neurodégénératives du système nerveux central. Mangelsdorf et ses collaborateurs ont réalisé un modèle de souris double KO LXR$\alpha\beta^{-/-}$ qui présente une atrophie axonale, une dégénérescence neuronale, une astrogliose et une accumulation de lipides dans des régions spécifiques du cerveau. Les souris invalidées pour le LXR$\beta$ présentent une dégénérescence des motoneurones et développent une pathologie semblable à la sclérose latérale amyotrophique[3].

En revanche, peu de données existent sur leur implication dans le système nerveux périphérique et dans la myélinisation.

## IV.4. Descriptif des objectifs et de l'impact (ne pas dépasser 200 mots)

L'objectif de la thèse est de comprendre l'implication des récepteurs LXRs dans la myélinisation du système nerveux périphérique. Pour cela, nous utiliserons un modèle de souris double KO LXR$\alpha\beta^{-/-}$ spécifique des cellules de Schwann que nous avons obtenu par croisement de souris Dhh-CRE avec des souris LoxP-LXR$\alpha\beta^{-/-}$. Il constitue un modèle de choix pour l'étude de l'implication des LXRs dans la myélinisation des nerfs car il permet de s'affranchir des conséquences liées à leur invalidation hors du SNP. Il devrait nous permettre de caractériser les dysfonctionnements du processus de myélinisation et d'identifier de nouveaux biomarqueurs diagnostics ou pronostics des maladies démyélinisantes.

Sur le plan thérapeutique, le projet vise à comprendre les effets des oxystérols, agonistes des récepteurs LXRs, dans des contextes pathologiques comme celui des neuropathies diabétiques. Le spectre des maladies neurodégénératives démyélinisantes liées aux LXRs dans le SNP est plus restreint que dans le SNC mais la prévalence des neuropathies périphériques consécutives au diabète est sans commune mesure. Avec une prévalence de 5,1%, le diabète est l'une des principales maladies des pays industrialisés. La neuropathie est la complication la plus courante du diabète, elle touche plus de la moitié des diabétiques à un moment de leur vie.

## IV.5. Aspect appliqué et/ou aspect innovateur (ne pas dépasser 200 mots)

Ce projet plurisdiciplinaire repose sur des analyses biochimiques de laboratoire, des techniques mettant en jeu le rayonnement synchrotron et la réalisation d'un dispositif de co-culture microfluidique innovant.

La structure de la myéline est couramment analysée par microscopie électronique sur des sections de nerf. Le développement récent de la micro- et la nano-diffraction des rayons X permet désormais de caractériser des fibres nerveuses isolées en préservant leur intégrité tridimensionnelle[4,5]. On peut également reconstituer l'image 3D d'un nerf entier à partir des positions et dimensions d'une centaine d'axones par tomographie de rayons X par contraste de phase[6]. Nous aurons recours à ces techniques accessibles sur les lignes ID13 et ID22 de l'ESRF pour caractériser les gaines de myéline et les régions nodales.

De nombreux systèmes ont été développés pour contrôler le microenvironnement physique et biochimique des cellules neuronales et guider la croissance de leurs axones[7]. Nous réaliserons un dispositif de co-cultures constitué de deux chambres reliées par des micro-canaux pour suivre *in situ* la myélinisation d'un axone par une cellule de Schwann et enregistrer son activité électrique. Il sera ainsi possible d'étudier l'effet des oxystérols sur la mise en place de la gaine de myéline.

## IV.6. Etat des recherches dans le domaine avant la thèse (ne pas dépasser 200 mots)

Notre équipe a montré que les oligodendrocytes et les cellules de Schwann sont capables de synthétiser des oxystérols (24(S)-OH, 25-OH et 27-OH, OH pour hydroxycholestérol) et d'exprimer les LXRs[8,9,10]. Nous avons également démontré que des oxystérols naturel et synthétique (25-OH et T0901317) sont capables de moduler l'expression des gènes de la myéline centrale et périphérique[11,12].

## IV.7. Programme de recherche prévu pour la thèse et contribution des différents partenaires (ne pas dépasser 200 mots)

Nous analyserons *ex vivo* la régulation de l'expression des gènes de la myéline et les niveaux d'expression des LXRs et de leurs cofacteurs dans les nerfs sciatiques de souris double KO LXR$\alpha\beta^{-/-}$ spécifique des cellules de Schwann et de souris WT traitées ou non avec un oxystérol synthétique (T0901317), agoniste des récepteurs LXRs.

Nous caractériserons la gaine de myéline tout le long de l'axone, jusqu'aux nœuds de Ranvier, par de nouvelles approches biophysique et biochimique :

- la micro-diffraction X (lignes ID13 et ID22, ESRF) et la microscopie à force atomique qui apporteront des informations structurales et mécaniques ;

- la micro-spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (ligne SMIS, synchrotron SOLEIL) couplée à l'analyse lipidomique *in situ* par spectrométrie de masse Tof-SIMS qui permettent de suivre la composition et la distribution des principaux constituants biochimiques et leur état d'oxydation dans le tissu ou la cellule.

Les facultés motrices des souris et leurs vitesses de conduction nerveuse seront mesurées afin d'évaluer l'intégrité fonctionnelle de leurs nerfs *in vivo*.

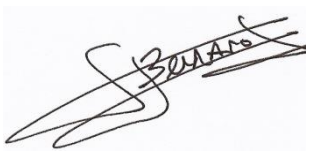
Nous étudierons *in vitro* l'effet des oxystérols sur la fluidité membranaire, la migration, la prolifération et la différentiation des cellules de Schwann en co-cultures avec des neurones. Nous développerons un dispositif microfuidique pour étudier le processus de myélinisation.

Bibliographie


1. Dietschy JM, Turley SD. Cholesterol metabolism in the brain. Curr Opin Lipidol. 2001 Apr; 12(2):105-12.
2. Janowski BA, Willy PJ, Devi TR, Falck JR, Mangelsdorf DJ. An oxysterol signalling pathway mediated by the nuclear receptor LXR alpha. Nature. 1996 Oct 24; 383(6602): 728-31.
3. Andersson S, Gustafsson N, Warner M, Gustafsson JA. Inactivation of liver X receptor beta leads to adult-onset motor neuron degeneration in male mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Mar 8; 102(10):3857-62.
4. Inouye H, Liu J, Makowski L, Palmisano M, Burghammer M, Riekel C, Kirschner DA. Myelin organization in the nodal, paranodal, and juxtaparanodal regions revealed by scanning x-ray microdiffraction. PLoS One. 2014 Jul 1;9(7):e100592.
5. Salditt T, Osterhoff M, Krenkel M, Wilke RN, Priebe M, Bartels M, Kalbfleisch S, Sprung M. Compound focusing mirror and X-ray waveguide optics for coherent imaging and nano-diffraction. J Synchrotron Radiat. 2015 Jul;22(4):867-78.
6. Bartels M, Krenkel M, Cloetens P, Möbius W, Salditt T. Myelinated mouse nerves studied by X-ray phase contrast zoom tomography. J Struct Biol. 2015 Dec;192(3):561-8.
7. Liazoghli D, Roth AD, Thostrup P, Colman DR. Substrate Micropatterning as a New in Vitro Cell Culture System to Study Myelination. ACS Chem Neurosci. 2012 Feb 15;3(2):90-95.
8. Trousson A, Bernard S, Petit PX, Liere P, Pianos A, El Hadri K, Lobaccaro JM, Ghandour MS, Raymondjean M, Schumacher M, Massaad C. 25-hydroxycholesterol provokes oligodendrocyte cell line apoptosis and stimulates the secreted phospholipase A2 type IIA via LXR beta and PXR. J Neurochem. 2009 May;109(4):945-58.
9. Nelissen K, Mulder M, Smets I, Timmermans S, Smeets K, Ameloot M, Hendriks JJ. Liver X receptors regulate cholesterol homeostasis in oligodendrocytes. J Neurosci Res. 2012 Jan;90(1) :60-71.
10. Shackleford G, Makoukji J, Grenier J, Liere P, Meffre D, Massaad C. Differential regulation of Wnt/beta-catenin signaling by Liver X Receptors in Schwann cells and oligodendrocytes. Biochem Pharmacol. 2013 Jul 1;86(1):106-14.
11. Makoukji J, Shackleford G, Meffre D, Grenier J, Liere P, Lobaccaro JM, Schumacher M, Massaad C. Interplay between LXR and Wnt/β-catenin signaling in the negative regulation of peripheral myelin genes by oxysterols. J Neurosci. 2011 Jun 29; 31(26):9620-9.
12. Meffre D, Shackleford G, Hichor M, Gorgievski V, Tzavara ET, Trousson A, Ghoumari AM, Deboux C, Nait Oumesmar B, Liere P, Schumacher M, Baulieu EE, Charbonnier F, Grenier J, Massaad C. Liver X receptors alpha and beta promote myelination and remyelination in the cerebellum. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Jun 16;112(24):7587-92.


Date : 24 mai 2017

Noms et signatures (directeurs de thèse)



Prof. Sophie BERNARD Dr. Frédéric Harb

Annexe: thématiques prioritaires pour les bourses doctorales 2017-2018

| |
|---|
| Cultural heritage<br>- Archaeology<br>- Protection, conservation and restoration of artifacts and ancient manuscripts<br>- Archaeometry |
| Arabic language and History<br>- Arabic linguistics, dynamism, and history<br>- Cognitive linguistics (in Arabic)<br>- History of Science in Arabic civilization<br>- Arabization of softwares |
| Sociology and political science<br>- Migration sociology<br>- Conflict resolution and Post-conflict societies<br>- Gender and feminist studies<br>- Gender diversity<br>- Ethics in media coverage of conflicts (conventional and social medias) |
| Business, Economics and Finance<br>- Entrepreneurial University and innovation<br>- Economy of conflict areas<br>- Lebanon as potential destination for offshoring<br>- Actuarial science and Financial risk management<br>- Mathematical and computer modeling applied to finance and economy<br>- Business information decision systems<br>- International finance and emerging markets<br>- Entrepreneurship<br>- Corporate governance<br>- Cross-cultural management<br>- Digital marketing<br>- Internal and external control<br>- Consumer behavior<br>- Enhancing work conditions<br>- Asset pricing, risk management and volatility modeling<br>- Banking policies in the MENA region |
| Environment, natural resources<br>- Valorization of Lebanese coastal zones<br>- Petroleum studies<br>- Sustainable water management<br>- Renewable energy<br>- Biodiversity and speciation<br>- Mitigation & management of natural risks<br>- Sociology of risk<br>- Air quality<br>- Urban planning in the age of climate change<br>- Environmental law |
| Agriculture and food<br>- Challenges of agricultural activities<br>- Food Security<br>- Food safety & food industry<br>- Veterinary medicine<br>- Pest and Alien species |
| Medical sciences |

- Addictive Diseases
- Cancer Research
- Cardiovascular diseases
- Clinical pharmacology. Pharmacy
- Clinical Immunology and Immunopathology
- Clinical Biochemistry
- Clinical Genetics
- Radiotherapy
- Diseases of Bones and Joints
- Endocrinology
- Geriatrics
- Infectious Diseases
- Medical Microbiology
- Mental Disorders, Psychosomatic Diseases
- Metabolic Disorders
- Methods of Epidemiology and Preventive Medicine
- Psychiatry
- Neurophysiology and Brain Research.
- Public Health and Health Services
- Respiratory Diseases
- Ethics in medicine and medical research

Basic science

- Theoretical & Particle physics
- Peaceful use of nuclear energy and technics
- Forensic chemistry
- Green chemistry
- Biomedical engineering
- Molecular & Cellular Biology
- Genetics
- Architecture and Design
- Civil and Environmental Engineering
- Chemical Engineering
- Ergonomy
- Electrical and Computer Engineering
- Industrial Engineering and Management
- Modern Imaging and vision
- Mechanical Engineering