



Sujet de thèse (Octobre 2016)

**ENTRETIEN DES CANDIDATS SELECTIONNES LA SEMAINE DU 18 JUILLET
RESULTATS 22 JUILLET**

FIND AN ENGLISH VERSION BELOW

Mécanismes moléculaires du transport de la leptine vers le cerveau: la traversée des tanocytes !

Mots clés: Trafic Membranaire, Endocytose, Exocytose, Leptine, Tanocytes, Obésité.

L'obésité et ses conséquences métaboliques constituent aujourd'hui l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans les pays développés. Le cerveau est un site clé de la perception des « signaux d'adiposité ». La leptine est une hormone anorexigène, sécrétée par le tissu adipeux, qui circule en quantité proportionnelle à la masse grasse corporelle. Afin d'activer les signaux conduisant l'individu à cesser de se nourrir, la leptine doit être transportée dans le cerveau où elle module l'activité des neurones sensoriels du noyau arqué de l'hypothalamus. Les mécanismes qui assurent le transport de la leptine dans le cerveau ne sont pas connus à l'heure actuelle. Or une meilleure compréhension de ces mécanismes est cruciale puisqu'il a été montré que le phénomène de résistance à l'action de la leptine observé chez une grande majorité d'obèse pourrait être la conséquence d'un transport défectueux de la leptine dans le cerveau.

Des données récentes, obtenues par nos collaborateurs sur ce projet, démontrent que les tanocytes, un type de cellules gliales spécialisées de l'hypothalamus, sont impliqués dans le transport de la leptine depuis la circulation sanguine vers le cerveau. Le but principal de ce projet de thèse est de découvrir les mécanismes qui régissent et contrôlent le transport tanocytaire de la leptine. Trois aspects seront particulièrement abordés par le doctorant: 1) comprendre comment la leptine est internalisée dans les tanocytes, 2) caractériser la voie de transcytose empruntée par la leptine pour traverser les tanocytes et 3) découvrir les mécanismes qui contrôlent la sécrétion de leptine dans le liquide céphalo-rachidien.

Afin d'atteindre ces objectifs, nous travaillerons principalement sur des cultures primaires de tanocytes de rat. D'un point de vue technique ce projet combinera des approches avancées d'imagerie cellulaire (vidéomicroscopie, microscopie confocale « spinning-disc », microscopie TIRF et microscopie électronique) avec des techniques de biologie cellulaire et moléculaire (culture cellulaire, transfection, test d'internalisation, immunofluorescence, qPCR, siRNA) et de biochimie (immunoprécipitation, western-blot, fractionnement subcellulaire).

Ce projet permettra de lever le voile sur rôle clé du transport tanocytaire dans le contrôle central de l'homéostasie énergétique. En jouant un rôle potentiellement important

dans la physiopathologie de la résistance à la leptine, le transport tanycytaire pourrait constituer une nouvelle cible thérapeutique pour traiter l'obésité. Ce projet est financé par l'ANR "Glioshuttles4Metabolism" dirigée par V. Prévot (INSERM, Lille), en partenariat avec R. Jockers (Institut Cochin, Paris) et S. Gasman (INCI, Strasbourg).

Publications relatives au projet:

Balland E, Dam J, Langlet F, Caron E, Steculorum S, Messina A, Rasika S, Falluel-Morel A, Anouar Y, Dehouck B, Trinquet E, Jockers R, Bouret SG, Prevot V. Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain. *Cell Metab.* 2014; 19(2): 293-301.

Langlet F, Levin BE, Luquet S, Mazzone M, Messina A, Dunn-Meynell AA, Balland E, Lacombe A, Mazur D, Carmeliet P, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. Tanycytic VEGF-A Boosts Blood-Hypothalamus Barrier Plasticity and Access of Metabolic Signals to the Arcuate Nucleus in Response to Fasting. *Cell Metab.* 2013; 17:607-617.

Clasadonte J, Poulain P, Hanchate NK, Corfas G, Ojeda SR, Prevot V. Prostaglandin E2 release from astrocytes triggers gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neuron firing via EP2 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108(38):16104-16109.

Compétences :

L'étudiant devra avoir un intérêt prononcé pour les problèmes fondamentaux de biologie cellulaire en général et plus spécifiquement pour le domaine du trafic membranaire intracellulaire. Un intérêt dans le domaine de la neurobiologie sera un plus. L'étudiant devra avoir suivi des formations de biologie cellulaire et/ou de neurosciences.

Expertises futures à acquérir:

L'aspect pluridisciplinaire de ce projet permettra au doctorant d'acquérir une importante compétence technique à la fois en imagerie cellulaire, en biochimie et en biologie cellulaire et moléculaire. En menant à bien ce projet, il se forgera une culture générale complète sur les mécanismes qui régissent le trafic membranaire, processus à la base de la communication cellulaire ainsi que sur la biologie des cellules gliales. De plus cette formation par la recherche le rendra à même par la suite d'aborder n'importe quelle question fondamentale de biologie.

Laboratoire d'accueil:

Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives (INCI)
CNRS UPR3212
Centre de Neurochimie, 5 rue Blaise Pascal, 67084 Strasbourg CEDEX.
France

Contact :

Les candidats devront envoyer un CV, une lettre de motivation, les notes/classements de Master1/Master2 et au moins une lettre de recommandation conjointement à Stéphane Gasman (gasman@unistra.fr), Petra Tóth (petra.tryoen@unistra.fr) et Stéphane Ory (ory@unistra.fr)

English version

Molecular mechanisms of leptin transport towards the brain: the tanycytes crossing!

Key words: Membrane trafficking, Endocytosis, Exocytosis, Leptin, Tanycytes, Obesity.

Obesity and its metabolic consequences have become major causes of morbidity and mortality in developed countries. The brain is a key site processing information from “adiposity signals”. Secreted into the blood stream by the adipose tissue, metabolic hormones such as leptin send messages to the central nervous system in order to control food intake and energy balance. To achieve this task, leptin need to be transported into the brain where it modulates the activity of sensory neurons located in the arcuate nucleus of the hypothalamus. How leptin is transported into the CNS remains unknown and constitutes one of the great challenging questions in this field since it has been proposed that “leptin resistance” observed in most obese people could be the consequence of a defective leptin transport into the brain.

Pioneer work from our collaborators recently demonstrated that specific glial cells of the hypothalamus, namely tanycytes from the median eminence, act as “gatekeepers” that regulate blood-borne signal access to the hypothalamus, and are involved in leptin transport for release into the cerebrospinal fluid. The main aim of this project is to uncover the molecular mechanisms controlling leptin transport across tanycytes. Specifically, the Ph.D student will address three main objectives i) to understand how leptin is internalized in tanycytes, ii) to characterize the trans-tanycytic route taken by leptin after its internalization and iii) to uncover the molecular mechanisms controlling leptin release from the tanycytes.

To achieve these objectives, experiment will be mainly performed on primary cultures of rat tanycytes. On the technical point of view, this project will be addressed through an innovative multidisciplinary approach which combines state-of-the-art cellular imaging (including video-microscopy as well as spinning-disc confocal, TIRF and electron microscopies) with molecular and cell biology (cell culture, transfection, immunofluorescence, internalization assay, qPCR, siRNA) and biochemistry (immunoprecipitation, western-blot, subcellular fractionation).

This project will highlight important clues regarding the mechanism by which tanycytes contribute to metabolic information delivery to the brain through leptin transport and release. More broadly, this research promises to shed new light on the cellular and molecular mechanisms used by the hypothalamus to integrate endocrine signals that coordinate energy homeostasis. The results will pave the way for the development of new treatment strategies to overcome hormone resistance in human obesity.

This project is funded by the ANR "Glioshuttles4Metabolism" led by V. Prévot (INSERM, Lille), in partnership with R. Jockers (Institut Cochin, Paris) et S. Gasman (INCI, Strasbourg).

Publications related to the project:

Balland E, Dam J, Langlet F, Caron E, Steculorum S, Messina A, Rasika S, Falluel-Morel A, Anouar Y, Dehouck B, Trinquet E, Jockers R, Bouret SG, Prevot V. Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain. *Cell Metab.* 2014; 19(2): 293-301.

Langlet F, Levin BE, Luquet S, Mazzone M, Messina A, Dunn-Meynell AA, Balland E, Lacombe A, Mazur D, Carmeliet P, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. Tanycytic VEGF-A Boosts Blood-

Hypothalamus Barrier Plasticity and Access of Metabolic Signals to the Arcuate Nucleus in Response to Fasting. *Cell Metab.* 2013,17:607-617.

Clasadonte J, Poulain P, Hanchate NK, Corfas G, Ojeda SR, Prevot V. Prostaglandin E2 release from astrocytes triggers gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neuron firing via EP2 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108(38):16104-16109.

Qualifications required :

The student should have a good knowledge in cell biology and a strong interest for the membrane trafficking processes in general. A good interest in cellular neurosciences will be a positive addition. The candidate can have been equally trained in a Master of cell biology or Neurosciences.

Expertise which will be acquired during the training:

The multidisciplinary aspect of this project will allow the student to acquire an important panel of technical expertises including cell imaging, biochemistry and cellular and molecular biology. By leading this project, the student will get a strong conceptual expertise in the field of membrane trafficking and glial cell biology. Moreover, this Ph.D training will allow the candidate to further manage any cell biology project in the future.

Host laboratory:

Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives (INCI)
CNRS UPR3212
Centre de Neurochimie, 5 rue Blaise Pascal, 67084 Strasbourg CEDEX.
France

Contact :

Applicants have to provide a CV, a letter of motivation, their notes and ranking of undergraduate studies and at least a recommandation letter to Stéphane Gasman (gasman@unistra.fr) and Petra Tóth (petra.tryoen@unistra.fr) and Stéphane Ory (ory@unistra.fr)

Pour ABG:

Présentation de l'établissement

Notre équipe de recherche est basée à l'Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives (INCI, CNRS UPR 3212) de Strasbourg dirigé par Marie-France Bader. L'Institut est composé de 9 équipes réparties en trois thématiques principales à savoir « Sécrétion neuroendocrine, neurotransmission et réseaux », « Neurobiologie des rythmes » et « Nociception et douleur ». L'institut est composé de 32 chercheurs, 14 enseignants-chercheurs, 6 PUPH, 20 ITA et 5 IATOS (Université de Strasbourg).

S. Gasman co-dirige avec N. Vitale l'équipe « Trafic membranaire intracellulaire dans le système nerveux ». Notre équipe est composée actuellement de 7 chercheurs, 1 enseignant-chercheur, 4 ITA et 5 doctorants. Pour la période 2011-2016, notre équipe a publié 53 publications à comité de lecture (39 articles de recherche et 14 revues).