

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : CDSN ENS
Titre de la thèse : Caractérisation de la physiologie des cellules musculaires lisses dans la myopathie viscérale		3 mots-clés : Pseudo-obstruction intestinale Muscle lisse viscéral Organoïde
Unité/équipe encadrante : TENS - INSERM UMR 1235		
Directeur de thèse : DUCHALAIS Emile/MAHE Maxime		N° de tél : 0608049136 Mail : emilie.duchalais@gmail.com/maxime.mahe@inserm.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>La dysmotilité gastro-intestinale (GI) est un problème médical courant et important, allant d'épisodes bénins et transitoires de constipation fonctionnelle à des maladies rares et potentiellement mortelles comme la pseudo-obstruction intestinale chronique (CIPO). Chez l'adulte, la pseudo-obstruction intestinale chronique représente la forme la plus grave de dysmotilité gastro-intestinale. De même, chez les nouveau-nés et les nourrissons, la pseudo-obstruction intestinale pédiatrique primaire (PIPO) est cliniquement définie par l'incapacité chronique du tube digestif à propulser son contenu, imitant une obstruction mécanique en l'absence de toute lésion occluant l'intestin, et est souvent associée à des dysfonctionnements de la vessie et de l'utérus (Thapar et al., 2018). Le diagnostic du CIPO reste difficile car il n'existe toujours pas de test diagnostique, ce qui entraîne généralement des retards ou des soins médicaux incorrects. Cela est principalement dû au manque de modèles pertinents pour étudier l'homéostasie du muscle lisse aux niveaux tissulaire, cellulaire et fonctionnel. La récente génération d'Organoïdes intestinaux humains et leur reconnaissance en tant que modèle innovant pour étudier l'intégrité des muscles lisses représentent une avancée technologique considérable dans la recherche sur les myopathies viscérales (Poling et al., 2018).</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p>Notre projet se concentrera sur le syndrome PIPO, un trouble sévère et rare de la motilité gastro-intestinale pédiatrique qui constitue un sous-groupe dans la famille des défaillances intestinales pédiatriques. Il devient de plus en plus évident que l'identification des mécanismes impliqués dans le développement et la plasticité des cellules musculaires lisses dans le contexte des variants ACTG2 porteurs du syndrome PIPO est d'une importance primordiale dans le développement d'une stratégie pour améliorer la fonctionnalité des muscles lisses et les résultats. Ce projet utilise de nouvelles méthodes pour générer des tissus intestinaux humains à partir de cellules souches pluripotentes humaines afin d'évaluer les conséquences des variants du gène ACTG2 dans le développement musculaire des organoïdes intestinaux humains.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <p>Le premier objectif est de générer des muscles lisses (SMC) spécifiques de l'intestin dans des organoïdes intestinaux dérivés de cellules souches pluripotentes (CSP). Le candidat étudiera la spécification musculaire suite à la différenciation HIO médiée par la rigidité. Le candidat caractérisera le SMC intestinal dans le modèle d'organoïde intestinal humain (HIO) dérivé de la CSP aux niveaux cellulaire, moléculaire et fonctionnel.</p> <p>Le deuxième objectif est de comprendre la mutation ACTG2 dans le CIPO en utilisant des modèles HIO. Cela implique la différenciation des HIO à l'aide de lignées iPSC dérivées de patients ACTG2 et corrigées par CRISPR/Cas9, la caractérisation du phénotype CIPO dans les HIO à partir de lignées iPSC ACTG2, et l'évaluation de la fonction musculaire lisse dans les HIO mutants ACTG2.</p> <p>Le troisième objectif consistera à différencier directement les cellules musculaires lisses intestinales à partir de lignées iPSC témoins et mutantes ACTG2. Pour déchiffrer la transition du lignage et la spécification musculaire, les CML dérivées d'iPSC de patients témoins et de patients ACTG2 seront comparées à la base de données actuelle sur les CML.</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u></p> <p>-De solides compétences en culture cellulaire, notamment en culture et différenciation de cellules ES et iPSC, sont requises. -Des compétences en analyse RNAseq à l'aide de logiciels (R, Python...) sont recommandées mais pas obligatoire.</p>		
<p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u></p> <p>Viti F, De Giorgio R, Ceccherini I, Ahluwalia A, Alves MM, Baldo C, Baldussi G, Bonora E, Borrelli O, Dall'Oglio L, De Coppi P, De Filippo C, de Santa Barbara P, Diamanti A, Di Lorenzo C, Di Maulo R, Galeone A, Gandullia P, Hashmi SK, Lacaille F, Lancon L, Leone S, Mahé MM, Molnar MJ, Palmitelli A, Perin S, Prato AP, Thapar N, Vassalli M, Heuckeroth RO. Multi-disciplinary Insights from the First European Forum on Visceral Myopathy 2022 Meeting. Dig Dis Sci. 2023 Oct;68(10):3857-3871. doi: 10.1007/s10620-023-08066-1. Epub 2023 Aug 31. PMID: 37650948; PMCID: PMC10517037.</p> <p>Vales S, Poling HM, Sundaram N, Helmrath MA, Mahe MM. In Vivo Human PSC-Derived Intestinal Organoids to Study Stem Cell Maintenance. Methods Mol Biol.2020;2171:201-214. doi: 10.1007/978-1-0716-0747-3_12. PMID: 32705643.</p> <p>Loffet E, Brossard L, Mahe MM. Pluripotent stem cell derived intestinal organoids with an enteric nervous system. Methods Cell Biol. 2020;159:175-199. doi: 10.1016/bs.mcb.2020.04.012. Epub 2020 May 27. PMID: 32586442.</p>		
<p><u>Collaborations nationales et internationales :</u></p> <p>Pascal de Santa Barbara & Sandrine Faure (Inserm PHYMEDEX - Team Visceral muscle development) Robert Heuckeroth (CHOP Philadelphia USA)</p>		