

# **Rapport suite à l'allocation de recherche « Mfge8 associée aux microparticules : biomarqueur et/ou vecteur biologique dans la physiopathologie de l'obésité ? »**

**Bénéficiaire : Soazig Le Lay**

INSERM U1063, Angers SOPAM : Stress Oxydant et Pathologies Métaboliques

## **I – INTRODUCTION AU PROJET**

Les vésicules extracellulaires (VE), incluant microvésicules (MV) et exosomes (EXO), sont émises par les cellules en réponse à différents stress cellulaires. Biomarqueurs de nombreuses pathologies, elles constituent aussi de véritables vecteurs biologiques circulant via les fluides de l'organisme et capables de moduler la signalisation de cellules cibles de part leur composition protéique, lipidique ou nucléique.

Le protéine Mfge8 (Milk fat globule e8 ou lactadhérine) est un composant majeur des VE. Plusieurs travaux ont révélé le rôle clé de Mfge8 dans l'inflammation, la résorption de collagène dans des conditions fibrotiques, l'angiogenèse. Plus récemment, Mfge8 a été impliquée dans le stockage et l'absorption lipidique intestinale en modulant l'activité des transporteurs d'acides gras Fatp1 et Cd36.

**Mfge8 apparaît donc comme une molécule pouvant favoriser le développement des complications métaboliques associées à l'obésité.** Dans ce contexte, **l'objectif de ce projet était d'étudier le rôle de Mfge8 associée aux VE dans la physiopathologie de l'obésité.**

## **II - RESULTATS OBTENUS**

### **II-1- Isolation et caractérisation des VE dérivées des adipocytes**

Un préalable à l'étude du rôle de Mfge8 associée aux VE était de connaître sa capacité d'association aux VE, plus particulièrement lorsqu'elles étaient émises par des adipocytes. Sur la base du développement d'un protocole d'isolation des VE à partir d'adipocytes 3T3-L1 et d'adipocytes isolés murins, nous avons quantifié et caractérisé les sous-types de VE (MV et EXO) sécrétées par les adipocytes. Des analyses protéomiques et lipidomiques ont permis, en outre, d'identifier les signatures spécifiques à chaque population de VE. Nous montrons ainsi une forte expression de Mfge8 dans les adipocytes, associée à une forte sécrétion via les VE dans les surnageants adipocytaires, se distribuant de manière équivalente entre MV et les EXO.

L'ensemble de ces résultats mettent en exergue La protéine Mfge8 apparaît comme un composant principal de ces VE, suggérant qu'elle pourrait relayer ses effets métaboliques via son association aux VE circulantes retrouvées dans la circulation sanguine.

**L'ensemble de ces travaux a été présenté lors de différents congrès sous forme de communications orales ou affichées (cf IV-Valorisation des travaux) et est actuellement en révision dans le « *Journal of Extracellular Vesicles* ».**

### **II-2- Identifier les VE Mfge8<sup>+</sup> circulantes comme biomarqueurs de l'état métabolique des patients**

Afin d'estimer la proportion de Mfge8 circulant dans la circulation sanguine associée aux VE, une étude basée sur la collecte de plasma de patients souffrant de syndrome métabolique (cohorte Metabol) a été initiée. Ces analyses ont été réalisées à partir de la cohorte Metabol ayant reçu l'aval des autorités et le consentement éclairé des patients inclus (N°CNIL : 117 48 22 (MR001/08/06/2006; Affsaps : n°2009-A00857-50 (24/09/2009) ; CPP Ouest II : n°2009-18 (01/12/2009).

La concentration plasmatique de Mfge8 (ainsi que d'autres adipokines) ont été mesurées sur les plasma de patients, stratifiés selon leur degré d'obésité (en fonction de leur BMI). Nous montrons que la concentration circulante de Mfge8 corrèle à l'obésité. De plus, par déplétion successive des VE circulantes, nous avons pu quantifié précisément le taux de Mfge8 circulant associée aux VE. Nous révélons ainsi qu'un tiers de Mfge8 circule associé aux exosomes dans la circulation. L'analyse corrélative de ces données, notamment avec des indicateurs de l'état métabolique des patients, est actuellement en cours.

Cette étude originale est la première à quantifier le taux de facteurs sécrétés via les VE. Les VE apparaissent comme une nouvelle voie de sécrétion d'un certain nombre de facteurs aux effets délétères dans le développement des altérations cardio-métaboliques. Un résumé de ces résultats a été soumis pour présentation lors du prochain congrès international sur les vésicules extracellulaires (ISEV) (cf IV-Valorisation des travaux).

### **II-3- Etudier le potentiel des VE Mfge8<sup>+</sup> à réguler le stockage lipidique à l'échelle de l'organisme**

La suite du travail de recherche se poursuit par le décryptage du rôle de Mfge8 lorsqu'associée aux VE. Pour ce faire, des expériences sont en cours visant à :

1. Etudier l'effet d'un traitement par de VE Mfge8<sup>+</sup> sur le stockage lipidique *in vitro* dans plusieurs modèles cellulaires.
2. Injecter des VE Mfge8<sup>+</sup> à des souris invalidées pour Mfge8, normalement protégées des dysfonctions métaboliques, et étudier le développement des complications métaboliques dans des conditions de surcharge nutritionnelle.

L'ensemble de ces données nous permettra de conclure quant au rôle potentiel de Mfge8 comme biomarqueur et/ou vecteur biologique des dysfonctions métaboliques associées à l'obésité.

### **III- PERSPECTIVES OBTENUS**

Les perspectives de ce travail constitueront la base de nouvelles stratégies visant :

- (a) à utiliser les VE Mfge8<sup>+</sup> comme biomarqueurs de l'état métabolique des patients,
- (b) à diminuer le taux de VE Mfge8<sup>+</sup> afin d'améliorer le profil métabolique et prévenir les complications associées dans un contexte d'obésité.

### **IV- VALORISATION DES TRAVAUX**

Les différentes communications affichées et/ou orales, et publication scientifique relatives à ces travaux sont listés ci-dessous. La SFD a été mentionnée à chaque soumission comme ayant contribué au financement de ce projet.

- **Communications affichées**

- **AFERO 2016, 14-15 Janvier 2016, Paris**

L'analyse protéomique quantitative des vésicules extracellulaires dérivées des adipocytes révèle la présence de protéines métaboliques clé dans le développement des complications métaboliques associées à l'obésité

Fleury A, Tlili H, Krupova Z, Truchet S, Henry C, Mabilieu G, Galitzky J, Andriantsitohaina R, Le Lay S.

In : Abstracts congrès AFERO 2016. (Obésité, 10, 4), 2016. 308–327

- **SFD 2016, 22 au 25 Mars 2016, Lyon (Communication Orale Discutée) :**

L'analyse protéomique des vésicules extracellulaires dérivées des adipocytes révèle la présence de protéines métaboliques importantes dans le développement des complications métaboliques associées à l'obésité.

S. Le Lay

In : Diabetes and Metabolism (Vol 42 - Supplément 1 - mars 2016), P. **A1-A109**, Résumés des communications du congrès annuel de la SFD et de la SFD Paramédical.

- **Communications orales**

- **2<sup>nd</sup> international symposium Microgenomics, 2 au 3 Juin 2016, Paris**

Proteomic profiling of extracellular vesicles derived from adipocytes reveals the presence of key metabolic proteins involved in the development of metabolic dysfunctions associated with obesity.

By S. Le Lay

<http://www6.inra.fr/microgenomics-2016/Final-Scientific-Program>

- **The Fifth International Meeting of ISEV, ISEV2016, Rotterdam, The Netherlands, 4 – 7 May, 2016**

Proteomic profiling of extracellular vesicles derived from adipocytes reveals the presence of key metabolic proteins involved in obesity-associated metabolic dysfunctions

By S. Le Lay

In : [J Extracell Vesicles](#). 2016; 5: 10.3402/jev.v5.31552.

- **Articles soumis**

***En révision à Journal of Extracellular Vesicles***

Characterization of adipocyte-derived EV subtypes identifies distinct protein and lipid signatures for microvesicles and exosomes

Maëva Durcin , Audrey Fleury , Emiliane Taillebois , Grégory Hilairret, Zuzana Krupova, Céline Henry, Sandrine Truchet, Martin Trötz Müller, Harald Köfeler, Guillaume Mabilieu, Olivier Hue, Ramarosan Andriantsitohaina, Patrice Martin and Soazig Le Lay