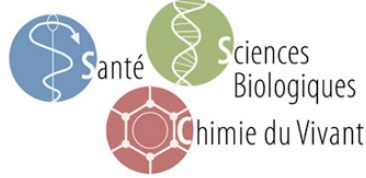




ECOLE DOCTORALE **SSBCV**



**Année 2017-2018 - Demande d'allocation doctorale
ED Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (SSBCV) n°549**

1. Informations administratives :

Nom de l'encadrant responsable de la thèse : MIGAUD Martine
Unité : UMR PRC 7247 - INRA Centre Val de Loire
Equipe (*si unité multi-équipes*): NHyRVana
Filière de rattachement : D
Email de l'encadrant : Martine.Migaud@inra.fr

Co-encadrant éventuel (NB : limité à 1 seul co-encadrant(e)) :

2. Titre de la thèse :

Interactions entre la niche neurogénique et la niche vasculaire dans l'hypothalamus adulte.

3. Résumé :

La neurogenèse est définie comme l'ensemble des processus de prolifération, de différenciation et de migration cellulaire, qui conduisent à la formation de nouveaux neurones à partir de cellules souches neurales multipotentes localisées dans des niches neurogéniques. Ces niches neurogéniques constituent des microenvironnements qui soutiennent, alimentent et contrôlent le déterminisme des cellules souches par l'intermédiaire de signaux essentiels pour le maintien de leurs propriétés cardinales. Chez l'adulte, la présence de telles niches neurogéniques a été démontrée dans plusieurs régions du cerveau en particulier dans la zone sous-épendymaire des ventricules latéraux (SVZ) et la zone sous-granulaire du gyrus denté de l'hippocampe (SGZ). Au sein de ces niches, les cellules souches neurales apparaissent majoritairement quiescentes *in vivo* puis sont réactivées selon les besoins. Ces deux niches neurogéniques sont caractérisées par une densité vasculaire élevée et par leur forte interaction avec le liquide céphalorachidien (LCR). Le système vasculaire et le LCR représentent donc des sources de molécules de signalisation pour la régulation de ces niches.

Plus récemment, une niche de cellules souches neurales a été trouvée dans l'hypothalamus, en contact avec le liquide céphalo-rachidien (LCR). Au contraire des deux niches canoniques de la SVZ et de la SGZ, les rôles des deux compartiments vasculaire et ventriculaire, dans la régulation de la niche neurogénique hypothalamique ont été très peu étudiés.

Chez le mouton, nous avons montré que la neurogenèse hypothalamique varie en fonction de la saison avec un taux de prolifération et plus de nouveaux neurones sont générés pendant les jours courts, correspondant à la période d'activité sexuelle. Ces variations de neurogenèse témoignent de l'existence de remaniements cellulaires au sein de l'hypothalamus en fonction des saisons. Le contrôle local (LCR) et systémique (vaisseau sanguin) de la niche neurogénique hypothalamique, pourrait avoir un impact significatif sur les fonctions physiologiques et sur la fonction de reproduction en particulier. Ces deux aspects de la régulation restent encore largement inexplorés dans le cas de la niche neurogénique hypothalamique pour laquelle aucune donnée n'est disponible dans la littérature.

Dans le cas de la niche neurogénique hypothalamique, nous postulons que les compartiments vasculaires et ventriculaires participent à ces processus de régulations.

Le projet de thèse que nous proposons vise à caractériser la niche vasculaire hypothalamique et définir les mécanismes par lesquels elle contrôle les processus de neurogenèse dans cette structure.

Pour réaliser ce projet, l'étudiant(e) combinera des méthodes, d'immunohistochimie, de microscopie confocale et d'analyse d'images pour explorer les interactions entre les cellules souches neurales et les vaisseaux sanguins dans le noyau arqué et l'éminence médiane. Il/elle réalisera des analyses IRM en particulier des angiographies par résonance magnétique (ARM), technique qui permet, après injection d'un agent de contraste paramagnétique tel que le gadolinium, de mesurer la taille et le nombre des vaisseaux sanguins ainsi que le volume sanguin. Une autre technique d'analyse pourra être utilisée : la VSI (vessel size index) qui permet de détecter les flux vasculaires dans le parenchyme hypothalamique et de calculer la taille des vaisseaux sanguins. Ces expériences seront réalisées dans le cadre du pôle Imagerie CIRE (Chirurgie et Imagerie pour la Recherche et l'Enseignement), qui dispose d'un IRM 3T et d'un CT-Scan dédiés à l'étude de gros modèles animaux. Ce projet sera effectué dans le cadre de l'ANR HypNeurogen (2016-2020) coordonnée par la directrice de la thèse.

Le programme se compose de trois tâches :

L'objectif de la première tâche sera d'analyser la distribution des cellules souches neurales et des précurseurs neuronaux (neuroblastes) par rapport au réseau vasculaire.

La tâche 2 aura pour but d'estimer l'activité de la niche vasculaire en fonction des saisons par des techniques de neuroimagerie (ARM, VSI). Ces techniques nous permettront de mesurer le nombre et la taille des vaisseaux dans la niche neurogénique et de déterminer si des processus d'angiogénèse sont mis en jeu.

Une troisième tâche consistera à caractériser le rôle du VEGF (Vascular endothelial growth factor) dans l'activité de la niche vasculaire. Le VEGF, libéré localement, stimule la migration et la prolifération des cellules endothéliales et est impliqué dans les processus d'angiogénèse. Nous étudierons sa distribution dans l'hypothalamus ainsi que celle de ses récepteurs VEGFR1 et VEGFR2. L'effet du VEGF sera étudié sur la niche vasculaire après injection dans le troisième ventricule.

A l'issue de sa thèse, l'étudiant(e) saura maîtriser les techniques d'immunohisto/cytochimie, aura de solides compétences en culture cellulaire, et il/elle pourra faire valoir une bonne expertise dans les techniques de neuroimagerie. Sur le plan cognitif, l'étudiant(e) aura acquis une expertise en neuroendocrinologie et aura de solides compétences concernant les mécanismes de neurogenèse adulte.

4. Résumé en anglais :

Interactions between the neurogenic niche and the vascular niche in the adult hypothalamus

Neurogenesis is defined as the processes of cell proliferation, differentiation and migration, which lead to the formation of new neurons from multipotent neural stem cells located in neurogenic niches. These neurogenic niches constitute microenvironments that support, feed and control the determinism of stem cells through key signals for the maintenance of their cardinal properties. In adult, the presence of such neurogenic niches has been demonstrated in several regions of the brain, particularly in the subependymal zone of the lateral ventricles (SVZ) and the subgranular zone of the dentate gyrus of the hippocampus (SGZ). Within these niches, neural stem cells appear mostly quiescent *in vivo* and then reactivated according to the needs. These two neurogenic niches are characterized by high

vascular density and strong interaction with cerebrospinal fluid (CSF). The vascular system and the CSF therefore represent sources of signaling molecules for the regulation of these niches.

More recently, a niche of neural stem cells has been found in the hypothalamus, in contact with the CSF of the third ventricle. Unlike the two canonical niches of the SVZ and SGZ, the roles of the two vascular and ventricular compartments in the regulation of the hypothalamic neurogenic niche have been poorly studied.

In sheep, we showed that hypothalamic neurogenesis varies with the season, showing a proliferation rate and more new neurons generated during short days, corresponding to the period of sexual activity in this seasonal species. These variations of neurogenesis give evidence to the existence of cellular reorganizations within the hypothalamus according to the seasons. Local (CSF) and systemic (blood) control of the hypothalamic neurogenic niche could have a significant impact on physiological functions and reproductive function in particular. These two aspects of the regulation remain largely unexplored in the case of the hypothalamic neurogenic niche for which no data is available in the literature.

In this thesis project we aim to characterize the hypothalamic vascular niche and we will identify the mechanisms by which it controls the processes of neurogenesis in this structure.

To carry out this project, the student will combine immunohistochemistry methods, confocal microscopy and image analysis to explore the interactions between neural stem cells and blood vessels in the hypothalamus. He/she will carry out Magnetic Resonance Imaging (MRI) analyzes, in particular magnetic resonance angiography (MRA), a technique that allows the measurement of the size and number of the blood vessels as well as the blood volume, following injection of a paramagnetic contrast agent such as gadolinium. Another analytical technique will be used: the VSI (vessel size index), which can detect vascular flows in the hypothalamic parenchyma and calculate the size of the blood vessels. These experiments will be carried out in the Imaging and Research Imaging Center (CIRE), which has a 3T MRI and a CT-Scan dedicated to the study of large animal models. This project will be carried out as part of the HypNeurogen ANR (2016-2020) coordinated by the thesis director.

This thesis program will be carried out according to three tasks:

The objective of the first task will be to analyze the distribution of neural stem cells and neuronal precursors (neuroblasts) relative to the vascular network.

The task 2 will aim to estimate seasonal vascular niche activity using neuroimaging techniques (ARM, VSI). These techniques will allow us to measure the number and size of vessels in the neurogenic niche and to determine if angiogenesis processes are involved.

A third task will be to explore the role of VEGF (vascular endothelial growth factor) in the activity of the vascular niche. VEGF, which is released locally, stimulates the migration and proliferation of endothelial cells and is involved in angiogenesis processes. We will study its distribution in the hypothalamus as well as that of its VEGFR1 and VEGFR2 receptors. The effect of VEGF will be studied on the vascular niche after injection into the third ventricle.

At the end of his/her thesis, the student will have a good expertise in the techniques of immunohisto / cytochemistry, will have strong skills in cell culture, and he will be able to put forward a good expertise in the techniques of neuroimaging. On the cognitive level, the student will have acquired a double expertise in neuroendocrinology and in the mechanisms of adult neurogenesis.