

Réponse à l'appel à projets Crédits Incitatifs du département PHASE 2019

UNITE : PRC Acronyme : MSBFOLLICULO (Renouvellement 2^e année)

Titre : Vers une biologie systémique multi-échelle : intégration du réseau de signalisation FSH dans un modèle multi-échelle de la folliculogenèse

	Noms	Implication (% du temps)	Unité	Classement DU
Porteur	Romain Yvinec	30 %	PRC	
Participants unité du porteur	Pascale Crépieux	10 %		
	Anne Poupon	20 %		
	Eric Reiter	10 %		
Unité 2	Frédérique Clément	30 %	INRIA	
	Frédérique Robin	10 %	INRIA	
	Marie Postel	20 %	Sorbonne U.	

1) Contexte et Etat de l'art

Ce projet se focalise sur la **signalisation FSH** au cours du stade **terminal de la folliculogenèse ovarienne**, et son rôle dans le processus de maturation et de sélection des follicules pré-ovulatoires. Au cours la folliculogenèse terminale, le follicule ovarien doit augmenter conjointement son nombre de cellules somatiques (prolifération cellulaire) ainsi que leur maturité (différentiation cellulaire). Nous avons proposé un modèle de la sélection folliculaire [1], sous forme d'un système de follicules représentés via le nombre et la maturité des cellules somatiques qui les composent. Un résultat essentiel provenant de l'analyse mathématique de ce modèle [2,3] est la nécessité d'introduire un facteur d'**auto-amplification dans l'évolution de la maturité des follicules**, afin d'obtenir un processus de compétition-sélection physiologiquement réaliste. Dans le modèle, ce mécanisme est de plus accentué par les différences entre follicules de biodisponibilité locale en FSH, qui représente le degré de vascularisation de chaque follicule.

La maturité des cellules somatiques des follicules ovariens est traditionnellement quantifiée par leur capacité de réponse à la FSH, elle-même caractérisée par l'augmentation intracellulaire en adénosine monophosphate cyclique (AMPC). Un résultat clé de la littérature [4] dans ce contexte est l'augmentation de la réponse individuelle à la FSH des cellules somatiques de la granulosa provenant de follicules de diamètre croissant : ainsi, conjointement à une prolifération cellulaire, un follicule ovarien augmente sa capacité de réponse à la FSH, et donc sa maturité. Le follicule atteint le stade pré-ovulatoire lorsqu'il est capable de s'affranchir de sa dépendance envers la FSH (dont la disponibilité décroît) et que ses cellules de granulosa deviennent sensibles à la signalisation LH.

Ainsi, le **réseau intra-cellulaire de signalisation FSH régule de manière clé la compétition, la croissance et la maturation des follicules en développement terminal**. L'auto-amplification de la maturité folliculaire dans notre modèle de la sélection folliculaire [1-3] a été initialement inspirée de l'augmentation d'efficacité de la réponse AMPC à la stimulation par FSH, et en considérant une version schématique du réseau de signalisation FSH [5].

Depuis plusieurs années, nous avons développé au sein de l'équipe BIOS une expertise sur le réseau de signalisation FSH à l'échelle intra-cellulaire [6-8] qui permet de revisiter la formulation initiale de notre modèle de sélection [1-3,5] et de pousser plus loin l'interprétation mécaniste du facteur d'auto-amplification de la maturité folliculaire, jusqu'à une **modélisation multi-échelle de la signalisation FSH au cours de la folliculogenèse**.

2) Objectifs

Notre objectif à long terme est d'**intégrer les échelles intra-cellulaires, cellulaires et tissulaires dans un modèle de folliculogenèse global** pour comprendre finement les différents niveaux d'action de la signalisation FSH. Cette compréhension est déterminante pour agir sur la fonction de reproduction et pour répondre aux enjeux économiques et sociétaux autour du maintien de la capacité reproductive des individus, tant dans des contextes cliniques, d'élevage ou de biodiversité. Le défi méthodologique est celui du **couplage entre échelles, qui est un défi fondamental pour la biologie systémique et prédictive**.

Notre objectif pour ce projet est d'implémenter la stratégie « **middle-out** » que nous avons élaborée pour des problématiques de biologie systémique multi-échelle. Il s'agit d'établir des ponts entre des modèles de **dynamiques intracellulaires** (en particulier le réseau de signalisation FSH) et des modèles multi-échelles de **dynamique de populations** (en particulier le modèle de sélection folliculaire). Le point-clé pour coupler ces approches est d'utiliser la **cellule** (cellule de granulosa dans ce contexte) comme **charnière** entre les niveaux de représentation. D'un côté, les réseaux de signalisation sont appréhendés comme des relations entrées/sorties faisant le lien entre l'exposition au ligand et le choix cellulaire. De l'autre côté, ces relations entrées/sorties sont utilisées pour la formulation des termes contrôlant les évolutions cellulaires dans la

dynamique de populations du modèle multi-échelle. Plus précisément, nous chercherons à faire un lien bidirectionnel entre (i) les propriétés de la fonction de maturation des follicules ovariens de notre modèle de sélection des follicules ovulatoires, et (ii) la topologie et la dynamique du réseau de signalisation du RFSH et ses perturbations naturelles ou induites. Ces objectifs sont des premiers pas vers **l'intégration et le contrôle de l'échelle intra-cellulaire dans un modèle multi-échelle du développement folliculaire** (par exemple modèle couplant équations différentielles ordinaires et équations aux dérivées partielles, ou modèle individu-centré).

3) Protocole

[WP1] Sur la base de notre expertise (biologique et modélisation dynamique [9]) du **réseau de signalisation FSH**, nous éluciderons les mécanismes biochimiques sous-jacents aux propriétés de la fonction d'auto-amplification de la maturation folliculaire. Notre hypothèse de travail est que la signalisation FSH modifie **l'expression des gènes** et donc **l'état cellulaire** et son environnement (sur un horizon de plusieurs jours) qui explique l'augmentation d'efficacité de la réponse AMPc à la stimulation par FSH (mesurée sur un horizon d'1h dans les expériences in-vitro). En particulier, nous examinerons l'effet d'une interaction directe entre le **RFSH** et les **stéroïdes**, ainsi que la contribution de la **signalisation endosomale**, dont le caractère persistant dans le temps en fait un bon candidat pour une action à long-terme de l'exposition à la FSH [10]. Ces effets feront l'objet d'une étude itérative entre expérimentation [Partenaire 1] et construction/sélection de réseaux de signalisation incorporant ou non ces modules [Partenaire 1 et 2]. Ce travail mènera à une description plus précise de la fonction de maturation [Partenaire 2].

[WP2] Nous établirons les **relations entrées-sorties** de différents modèles de signalisation susceptibles de générer des mécanismes d'auto-amplification, et nous comparerons les configurations possibles des modules du réseau en évaluant leur pertinence physiologique. Enfin, nous chercherons à comprendre comment des **modifications induites** (mutagenèse ciblée, modulations conformationnelles induites par des ligands biaisés tels que des variants naturels d'hormones [12,13] ou des petites molécules synthétiques [14]) peuvent déformer ces relations [Partenaire 1] et **modifier le comportement du modèle multi-échelle** dans lequel elles sont intégrées [Partenaire 2].

[1] [F. Clément et al. Prog. Biophys. Mol. Biol., 113\(3\), 2013.](#)

[2] [B. Aymard et al. SIAM J. Appl. Math., 76\(4\), 2016.](#)

[3] [F. Clément et al. Multiscale Model. Simul., 15\(3\), 2017.](#)

[4] [K.M. Henderson et al. J. Reprod. Fertil., 81:395–402, 1987.](#)

[5] [F. Clément et al. Am. J. Physiol. 281 :E35–E53, 2001.](#)

[6] [E. Reiter, et al. Mol. Cell. Endocrinol., 449 :28–41, 2017.](#)

[7] [De Pascali et al. In Intern. Rev. of Cell and Mol. Biol. 338\(I\), 2018](#)

[8] [Ulloa-Aguirre et al. Endocrinology, 159\(8\):3020–3035, 2018.](#)

[9] [Heitzler et al. Mol Syst Biol., 8:590, 2012.](#)

[10] [S. Lyga et al. Endocrinology, 157\(4\) :1613–1621, 2016,](#)

[11] [L. Casarini et al. Reproduction, 150\(6\) :R175–R184, 2015.](#)

[12] [D. Klett et al. Mol. Cell. Endocrinol., 434 :144–153, 2016.](#)

[13] [L. Riccetti et al. Sci. Rep., 7\(1\) :940, 2017.](#)

[14] [M.A. Ayoub et al. Mol. Cell. Endocrinol., 436 :10–22, 2016.](#)

[15] [Yvinec et al. Expert Opin. Drug Discov. \(in press\), 2018](#)

[16] [Quignot and Bois, Plos One, 8\(1\) :e53891, 2013.](#)

4) Calendrier détaillé

M1-M6 : étude itérative de réseaux de signalisation FSH et expériences complémentaires (WP1)

M6-M12 : Relation entrée-sortie des réseaux RFSH et fonction de maturation du modèle multi-échelle (WP2)

5) Caractère novateur ou risqué du projet (3-4 lignes maximum)

Les études couplant l'échelle intra-cellulaire aux échelles multi-cellulaire et tissulaire sont rares, et particulièrement difficiles en physiologie et en biologie du développement. Ce projet posera donc les bases méthodologiques du **couplages entre ces échelles**. De plus, il donnera des points d'entrées déterminant pour des modifications du réseau FSH impactant la biologie de la reproduction femelle.

6) Adéquation au schéma stratégique du département (2-3 lignes maximum)

Champ thématique : **Animaux (A)** (mécanismes de la signalisation FSH et rôle dans la fonction de reproduction).

Défi 2, l'objectif prioritaire « Décrire et modéliser les interactions entre les différents niveaux d'organisation, du gène jusqu'au système » **[#OpenScience-3]** (modélisation multi-échelle et biologie des systèmes)

7) Caractère stratégique du projet

Ce projet est structurant dans la collaboration existante¹ entre les équipes MYCENAE (INRIA) et BIOS (INRA PRC), et notamment en vue d'une évolution de MYCENAE vers une équipe-projet commune (EPC) reconnue par l'INRA et l'INRIA². Par ailleurs, il nous a permis dans cette première année de soumettre un projet ANR en collaboration avec le LPGP (anr EGGO). Nous prévoyons de soumettre d'autres projets de plus grande envergure en biologie des systèmes multi-échelles dans les prochaines années.

¹AgroBi INSIGHT (2007), Thèse en co-encadrement de Domitille Heitzler (2011), Frédérique Robin (2016-), projet [REGATE](#) (2009-2013)

² Ce projet a été reçu favorablement côté INRA à la suite de l'évaluation HCERES de la PRC. Côté INRIA, le projet a été présenté et évalué positivement au cours du séminaire d'évaluation 2018 du thème « Modélisation et commande pour le vivant ».

8) *Pour les projets sur 2 ans déjà engagés* : résumé des résultats déjà obtenus et justification de la demande pour la 2^{ème} année

Durant la première année du projet, nous avons pu clarifier des hypothèses mécanistes qui pourraient expliquer l'auto-amplification de la maturité des follicules, ainsi que progresser sur les formalismes mathématiques nécessaires pour répondre aux enjeux posés (détaillés ci-dessous).

Du point de vue expérimental, nous avons obtenu des données au sein de l'équipe BIOS qui mettent en évidence (i) une potentialisation des effets de la FSH (et de la LH) par les stéroïdes (effet de modulation allostérique positive dans des cellules HEK exprimant le RFSH) ; (ii) la possibilité de biaiser le signal du RFSH par des agonistes. De plus, nous avons effectué une revue [7-8] des travaux précisant la contribution de la signalisation FSH à l'échelle intracellulaire, et en particulier du rôle de la signalisation endosomale [10] et de la signalisation biaisée [6].

Du point de vue de la modélisation, nous avons également réalisé une revue des modèles et formalismes utilisés pour la signalisation des gonadotropines, aux différentes échelles anatomiques, des modèles de pharmacocinétique-pharmacodynamique multi-organes aux modèles intracellulaires [15]. Nous avons par ailleurs développé une collaboration avec Frédéric Bois et Rémy Beaudouin (INERIS) ayant une expertise sur l'expression des gènes induite par la stimulation FSH et son effet sur la production des stéroïdes [16]. Cette collaboration s'est traduite par la soumission d'un projet ANR PRC coordonné par F. Clément (EGGO : Multiscale mathematical modeling of oogenesis in vertebrates: coupling physiological and (eco-)toxicological approaches), dans un cadre plus large de modélisation multi-échelle et de physiologie comparée de l'ovogenèse mammifère/poissons, associant le Laboratoire de Physiologie et Génétique des Poissons (INRA Rennes). Nous avons notamment pour objectif d'améliorer la prédiction des effets toxicologiques de composés chimiques (tels que des perturbateurs endocriniens) sur la reproduction femelle. L'un des aspects de ce projet ambitieux concerne ainsi naturellement l'intégration de la signalisation des gonadotropines et des stéroïdes dans un modèle multi-échelle de l'ovogenèse. En effet, une cible avérée des perturbateurs endocriniens concerne la dérégulation de la stéroïdogénèse [16], ce qui pourrait donc (dans le cadre de notre hypothèse de travail) impacter la maturation folliculaire.

Enfin, concernant le développement d'outils mathématiques adéquat, nous avons travaillé lors de l'école d'été «Cemracs 2018³.» (supervision d'un séjour de recherche de deux étudiantes pendant 6 semaines) sur des formalismes de modélisation multi-échelle de la folliculogénèse (déterministes et stochastiques), ainsi que sur une séparation d'échelle de temps rigoureuse qui permet de réduire le modèle afin de l'étudier de manière analytique. Nous avons par ailleurs implémenté numériquement cette séparation d'échelle de temps et montré son potentiel pour la calibration de paramètres. Un proceeding est en cours de rédaction.

La première année du projet MSBFOLLICULO nous a permis d'établir plusieurs hypothèses de mécanisme intracellulaire, FSH-dépendant, expliquant l'augmentation d'efficacité de la réponse AMPc à la stimulation par FSH : la première est l'augmentation de la stéroïdogénèse, FSH-dépendante, qui potentialiserait la réponse AMPc FSH-dépendante. Une deuxième hypothèse (non exclusive), est le rôle accru de la signalisation endosomale (via l'internalisation des récepteurs FSHR) qui permettrait une réponse AMPc plus soutenue dans le temps que la signalisation membranaire. L'augmentation de la signalisation endosomale avec la maturité folliculaire reste cependant à confirmer expérimentalement.

En parallèle, nous avons établi le lien rigoureux entre la fonction de maturation des follicules dans le modèle [1-3] et la réponse AMPc des cellules de la granulosa stimulés par la FSH, établi dans [5]. Cette dernière étude était basée sur une réponse « phénoménologique » des cellules de la granulosa, et n'est plus compatible avec les connaissances actuelles du réseau intra-cellulaire du récepteur à la FSH. Il nous reste donc à modifier ce modèle de réponse AMPc, sur les bases des connaissances actuelles, et à le ré-injecter ensuite dans le modèle multi-échelle. Cette première année nous a ainsi permis de poser les bases conceptuelles (tant biologiques que mathématiques) sous-jacentes à notre projet, la deuxième année consistera à donner une preuve de concept du couplage des échelles intra-cellulaire, cellulaire et tissulaire. L'explicitation, de manière mécaniste, de la rétroaction positive entre la maturité folliculaire et l'efficacité de la signalisation FSH au niveau cellulaire, pourra être ainsi étendue de manière générale à l'ensemble de l'ovogenèse, dans un projet de plus grande ampleur (à moyen-long terme), visant à coupler les voies de signalisations principales ciblant la folliculogénèse et la dynamique de populations de follicules.

³ Le Cemracs est une école d'été récurrente organisée sous les auspices de la SMAI (Société de Mathématiques appliquées et industrielles) et du CIRM (Centre International de Rencontres Mathématiques). [Le thème de l'édition 2018](#) est *Numerical and mathematical modeling for biological and medical applications: deterministic, probabilistic and statistical descriptions*. Le fonctionnement de cette école est basé sur le financement de séjours d'étudiants (M2 à postdoc) qui prennent en charge des projets de recherche proposés par des équipes académiques ou industrielles.

9) Justification des dépenses prévues (si plusieurs tâches, les informations doivent permettre de comprendre le coût de chaque tâche)

Pour mener à bien le travail collaboratif entre les deux partenaires, nous aurons besoin de frais de déplacements (2000e). La modélisation reposant sur l'outil informatique, nous avons inclus des frais de matériel et logiciels informatiques (2500+3000e).

Enfin, nous souhaitons co-encadrer un stagiaire de M2 (6 mois) qui pourrait déboucher sur une thèse en biologie des systèmes multi-échelle.

10) Budget Prévisionnel

BUDGET	Unité du porteur	Unité 2	Unité 3	Total projet	Aide demandée PHASE
Frais expérimentaux					
Frais d'analyses (préciser et détailler)					
Déplacements	1000	1000		2000	1000
Ordinateur	2500	2500		5000	2500
Contribution à l'achat de licences	Ingenuity Pathway Analysis (5000) Matlab (2500)			7500	3000
Stages (6 mois M2)	3500			3500	3500
Total	14500	3500		18 000	10 000

Si une aide a été demandée à un autre département (hors GA) pour le même projet :

Département :

Montant :

En cas de projet sur 2 ans, indiquez selon le cas :

En euros	PHASE	PHASE	
a) Aide obtenue en 2018	9 000 E	l'aide demandée pour 2019	
b) Aide demandée pour 2019	10 000 E	celle qui serait demandée en 2020	

ANNEXE

Si le porteur de projet a bénéficié de crédits incitatifs du département PHASE au cours de l'une des 3 années précédentes

Titre du projet précédent : TRADUCTOPHENO, prédire le phénotype cellulaire à la lumière du traductome

Année : 2016

Principaux résultats issus du projet (en quelques lignes) et valorisations :

Avec l'aide du Crédit Incitatif TRADUCTOPHENO, nous avons pu obtenir le protéome induit par l'hormone folliculo-stimulante (FSH) dans son tissu-cible, la cellule de Sertoli de rat mâle, conjointement avec la plateforme PAIB de la PRC. Parallèlement, nous avons adapté des méthodes statistiques d'expression différentielle (connues pour le RNA-Seq) au traitement du traductome et du protéome. Ces analyses ont révélé que :

(i) L'action de l'hormone FSH, 90 min après stimulation, est prépondérante au niveau du traductome alors qu'elle induit très peu d'expression différentielle au niveau du transcriptome.

(ii) Environ la moitié des gènes significativement différentiellement exprimés au niveau du traductome sont détectés par spectrométrie de masse au niveau du protéome.

(iii) Environ 50 % des protéines du protéome sont différentiellement exprimées suite à la stimulation par FSH

(iv) Toutefois, on observe une absence de corrélation quantitative pour les sens de variation (fold change) entre le traductome et le protéome.

Cette absence de corrélation quantitative, désormais classique pour une comparaison transcriptome/protéome, est assez étonnante pour une comparaison traductome/protéome, et fera l'objet de recherches approfondies.

Valorisation : 2 articles sont en préparation (1 méthodologique, et 1 sur les résultats biologiques).

Ce projet a déjà donné lieu aux communications suivantes:

Communication orale à des congrès internationaux :

- R. Yvinec, Tréfier A. and P. Crépieux. (2017). Translatome of the FSH receptor in Sertoli cells. *Fourth International Congress on Gonadotropin and their Receptors*, Modena, Italy, 20th-23rd September 2017.
- P. Crépieux et al. (2018) A hormone-regulated translatome in primary cells highlights a positive feedback loop of signaling components operating at the level of translation, ICSB, Lyon, France, October 28th – November 1st 2018.

Présentation de congrès d'audience internationale avec comité de sélection :

- Tréfier A., R. Yvinec*, T. Bourquard, K. León, Musnier A., T. Boulo, J. Morales, N. Langonné-Gallay, F. Guillou, E. Reiter, A. Poupon and P. Crépieux. (2017). The translatome of the FSH receptor reveals that several FSH-responsive signaling effectors are co-translated in primary rat Sertoli cells. *4th annual meeting of the GDR 3545 RCPG-PhysioMed meeting*, Toulouse, France 4-6 novembre 2015.
- Tréfier A., R. Yvinec, T. Bourquard, K. León, Musnier A., T. Boulo, J. Morales, N. Langonné-Gallay, F. Guillou, E. Reiter, A. Poupon and P. Crépieux. (2016). Follicle-stimulating hormone translatome in a polarized cell. *42nd European symposium on hormones and cell regulation*, Mont Sainte-Odile, France 4-7 oct. 2016.
- R. Yvinec, Tréfier A., T. Bourquard, K. León, Musnier A., T. Boulo, J. Morales, N. Langonné-Gallay, F. Guillou, E. Reiter, A. Poupon and P. Crépieux. (2016). Translatome of the follicle-stimulating hormone receptor, in primary rat Sertoli cells. *5th Annual meeting of the GDR RCPG-PhysioMed*, Tours, 21-24 November 2016.

Présentation de congrès d'audience nationale avec comité de sélection :

1. R. Yvinec, T. Bourquard, K. León, Tréfier A., Musnier A., T. Boulo, J. Morales, N. Langonné-Gallay, F. Guillou, E. Reiter, A. Poupon and P. Crépieux. (2016). Intégration de contraintes spatiales dans la modélisation du traductome du RFSH dans une cellule polarisée. *Journées d'Animation Scientifique du Département PHASE*, Tours, France, 5-6 avril 2016.
- Tréfier A., R. Yvinec*, T. Bourquard, K. León, Musnier A., T. Boulo, J. Morales, N. Langonné-Gallay, F. Guillou, E. Reiter, A. Poupon and P. Crépieux. (2017). The translatome of the FSH receptor reveals that several FSH-responsive signaling effectors are co-translated in primary rat Sertoli cells. *2nd Reprosiences meeting*, Tours, France 10-12 avril 2017.
- R. Yvinec, T. Bourquard, K. León, Tréfier A., Musnier A., T. Boulo, J. Morales, N. Langonné-Gallay, F. Guillou, E. Reiter, A. Poupon and P. Crépieux. (2017). Modélisation stochastique et analyse statistique de l'expression génétique, Poitiers, France, Laboratoire de Mathématiques et Applications. Translatome of the follicle-stimulating hormone receptor, in primary rat Sertoli cells