

11-13
SEPT.
2024

LILLE
GRAND PALAIS

CONGRÈS FRANÇAIS d'HÉMOSTASE



Session CO Hot topics Multidisciplinaires
CFH 00154
Vendredi 13 septembre

Deciphering Hepatosteatorosis and Coagulation Defects: Insights from Single-Cell RNA Sequencing

Timothée Bigot, Joel Haas, Bart Staels, Antoine Rauch,
Annabelle Dupont, Sophie Susen, Mickael Rosa

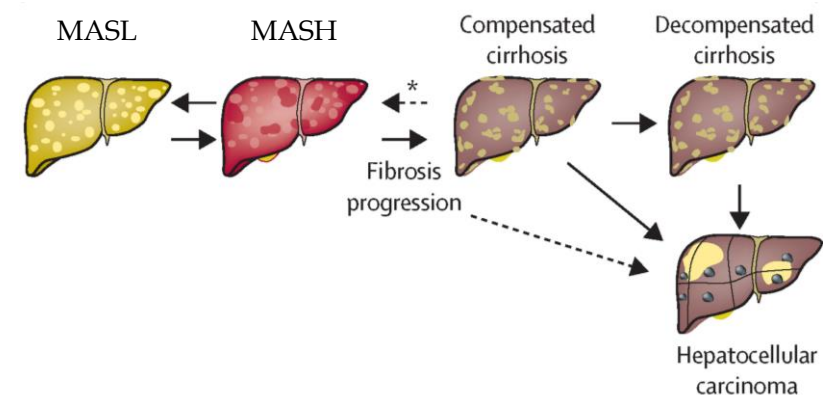


La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

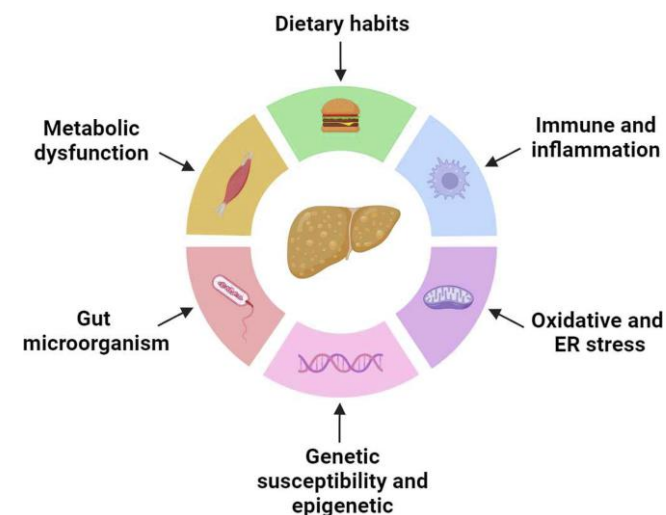
MASLD

- ❖ MASLD (*Metabolic dysfunction-Associated Steatotic Liver Diseases*)
 - ❖ Accumulation de lipides dans les hépatocytes
 - ❖ Large spectre de pathologies
 - ❖ Expression hépatique du syndrome métabolique

- ❖ MASH (*Metabolic dysfunction-Associated SteatoHepatitis*)
 - ❖ 1^{er} stade pathologique
 - ❖ Ballonisation des hépatocytes, inflammation et fibrose
 - ❖ Etiologies complexes
 - ❖ Complications hépatiques et extra-hépatiques

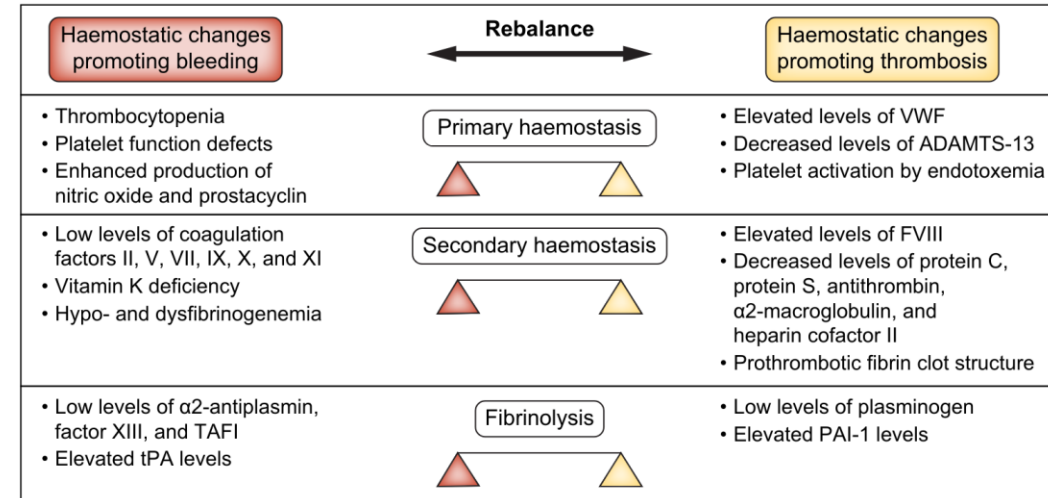


D'après Powell E. The Lancet. 2021 Jun; Vol 397; Issue 10290 ; 2212-2224



MASLD et hémostasie

- ❖ Facteurs de coagulation sont presque exclusivement synthétisés par le foie (**Hépatocytes et LSECs**) (Do *et al.*, 1999 & Shahani *et al.*, 2010)
- ❖ Les pathologies chroniques du foie affectent la synthèse des facteurs de coagulation
 - ❖ Une **hémostasie compensée** (Lisman *et al.*, 2022)
- ❖ Tendance pro-thrombotique de la MASH (Swan *et al.*, 2023)
- ❖ Tendance **dépendante du patient** (Valenti *et al.*, 2022)
- ❖ Administration d'anticoagulants limite la progression de la fibrose (Kopec *et al.*, 2017)

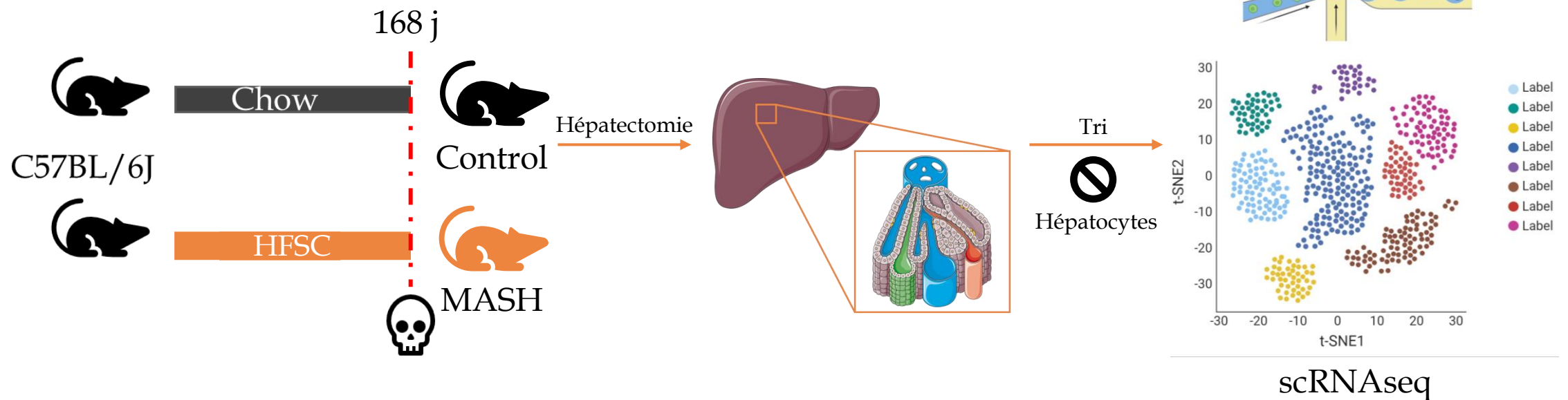


Lisman T. Hepatol. 2022 Jun;76(6):1291-1305

La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

Objectif

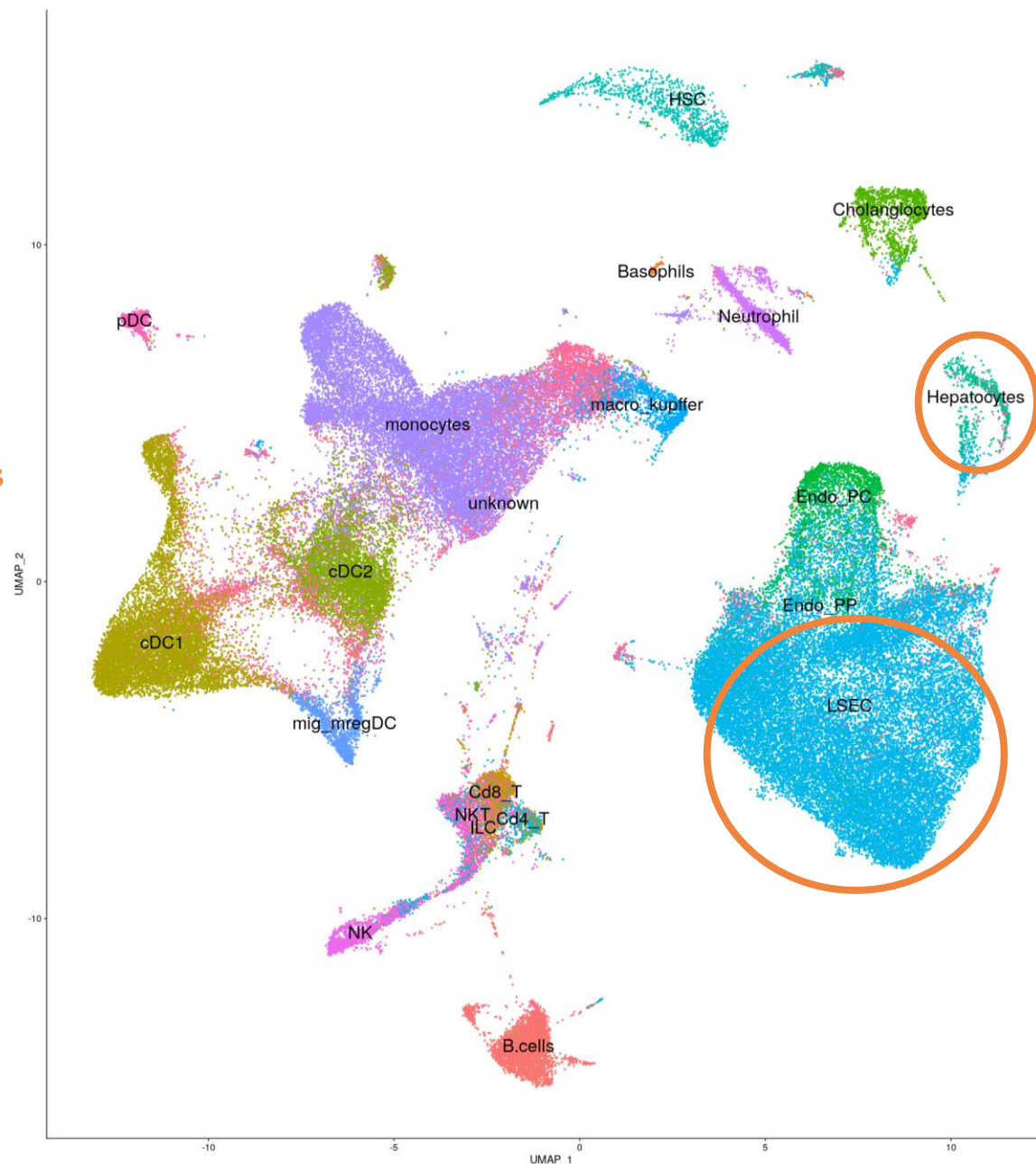
Caractériser les mécanismes moléculaires des troubles hémostatiques lors d'une MASH dans un modèle murin *a posteriori*



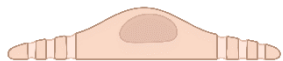
La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

Pre-processing

- ❖ Préparation des données
 - ❖ Données de seq brutes → objet Seurat final
 - ❖ Quality controls
- ❖ Identification basée sur des **signatures transcriptomiques**
- ❖ Hépatocytes présents
 - ❖ Puissance statistique trop faible
- ❖ LSECs en nombre
 - ❖ Population d'intérêt
 - ❖ **MASH vs Chow**

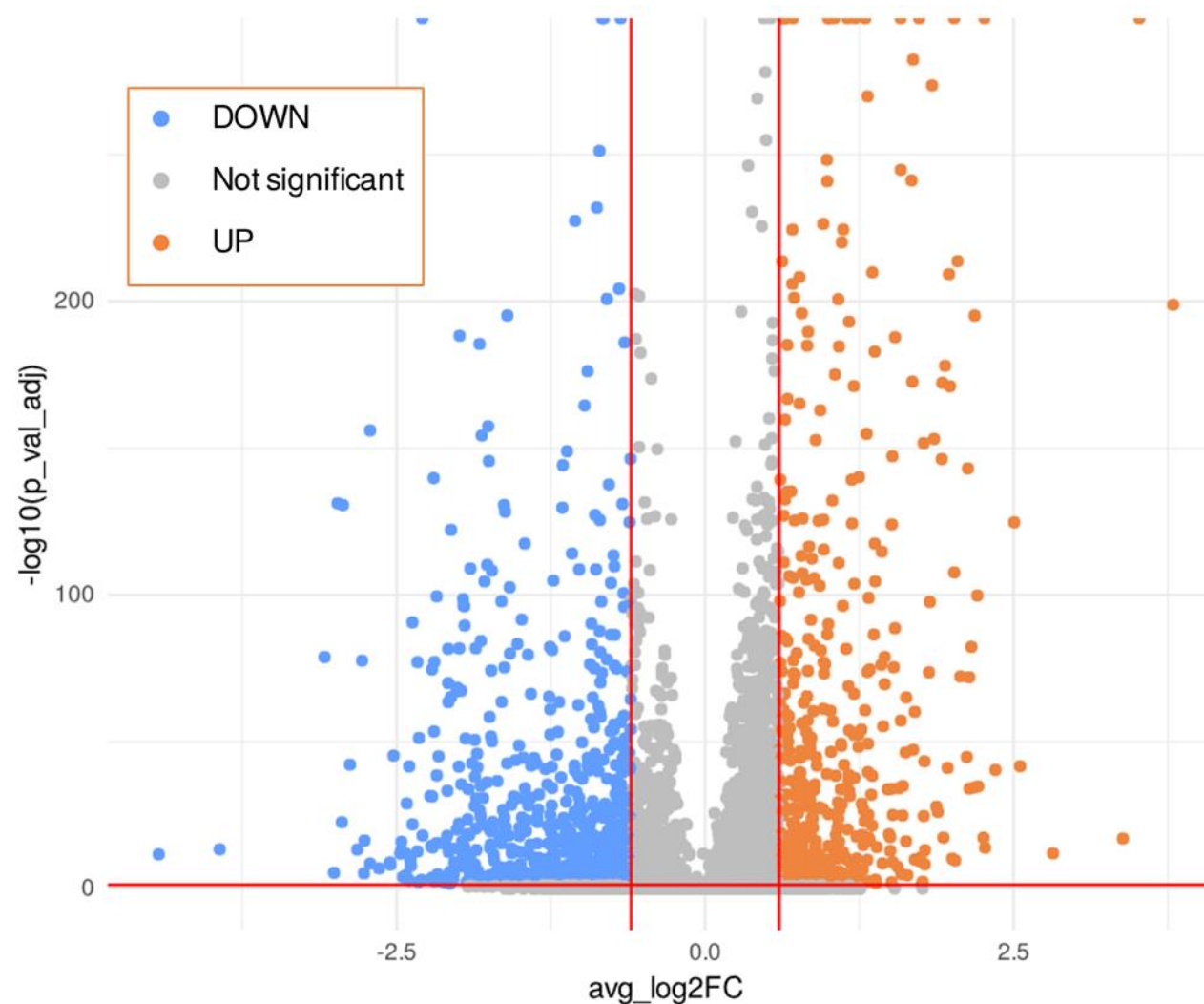


LSECs



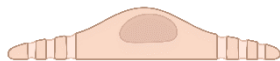
Gènes dérégulés (DEGs) dans le modèle MASH

- ❖ Listes de gènes dérégulés
- ❖ Analyses complémentaires :
 - ❖ Enrichissement des voies moléculaires
 - ❖ Motifs de fixation de FTs
 - ❖ Réseau de régulation des gènes



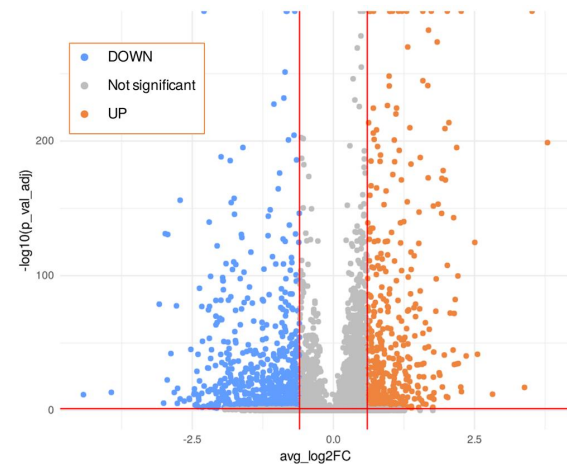
La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

LSECs



DEGs dans le modèle MASH

- ❖ Listes de gènes dérégulés
- ❖ Analyses complémentaires :
 - ❖ Enrichissement des voies moléculaires
 - ❖ Motifs de fixation de FTs
 - ❖ Réseau de régulation des gènes



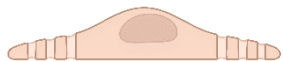
 Enrichr

i-cisTarget



La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

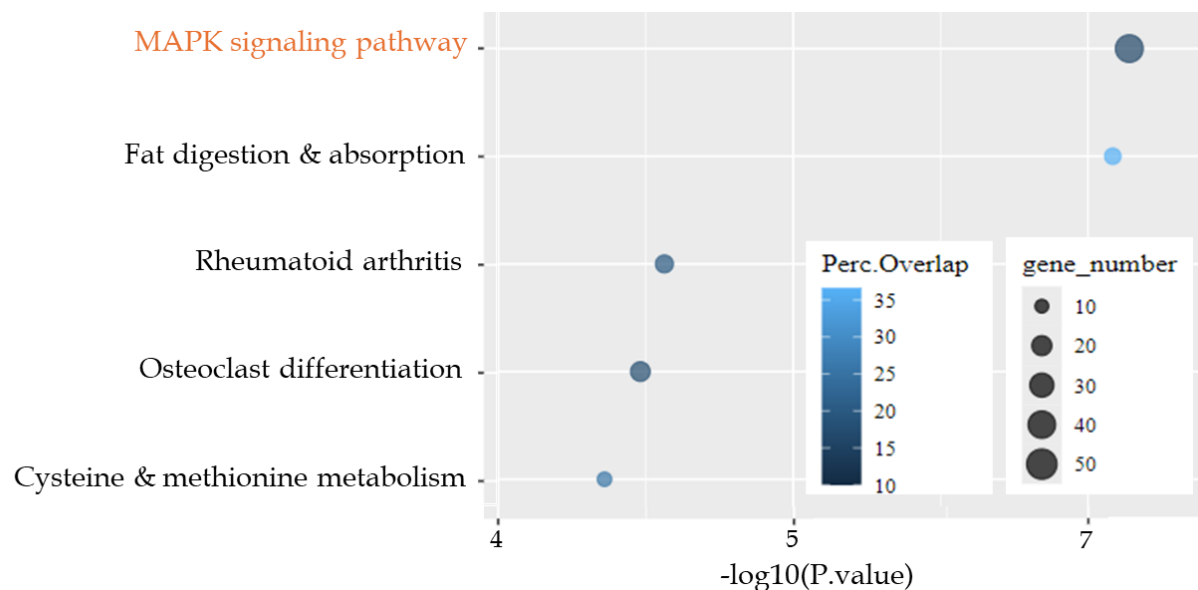
LSECs



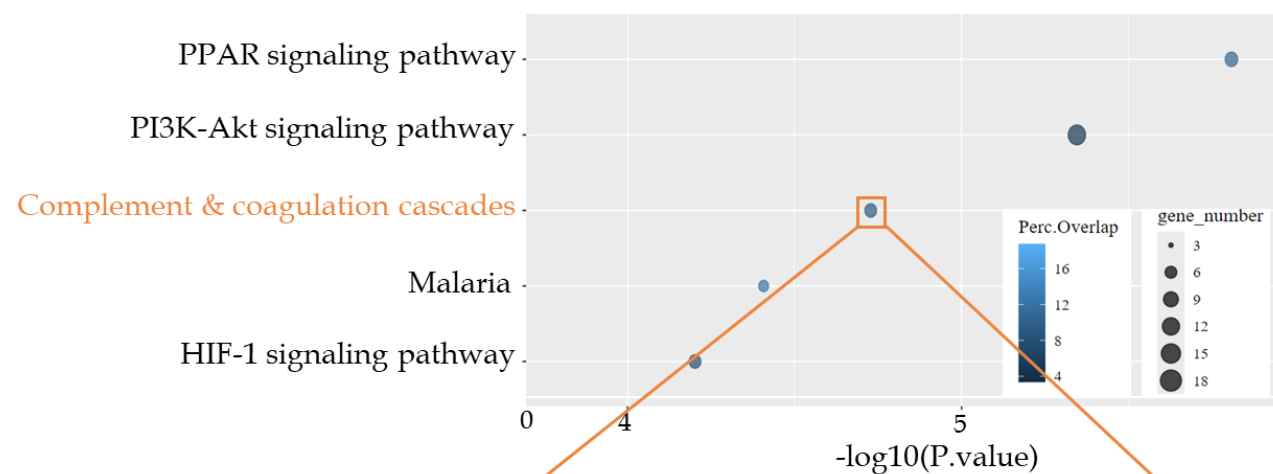
Voies dérégulées KEGG



À partir des gènes *down* régulés



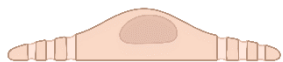
À partir des gènes *up* régulés



FGA ; SERPINA1(C/E) ; F8 ; VWF ; F2R ; A2M ; CFB

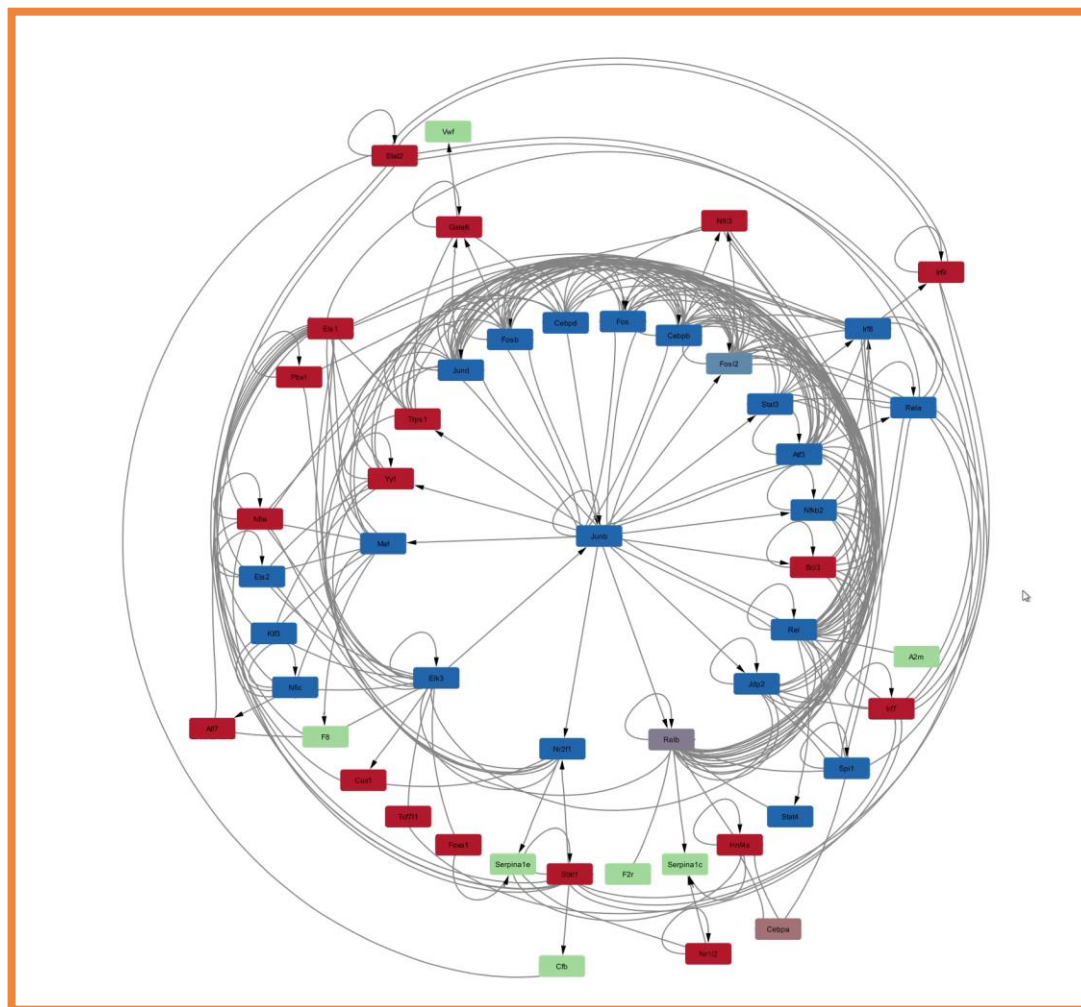
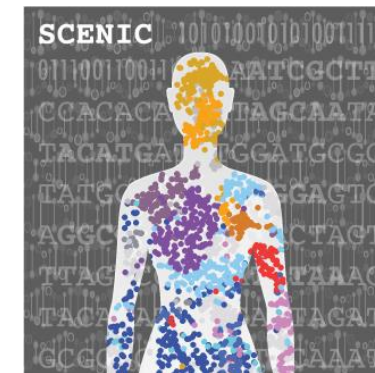
La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

LSECs



- ❖ GRN sur les gènes dérégulés de la voie KEGG Coagulation Cascades

Réseau de régulation des gènes (GRN)



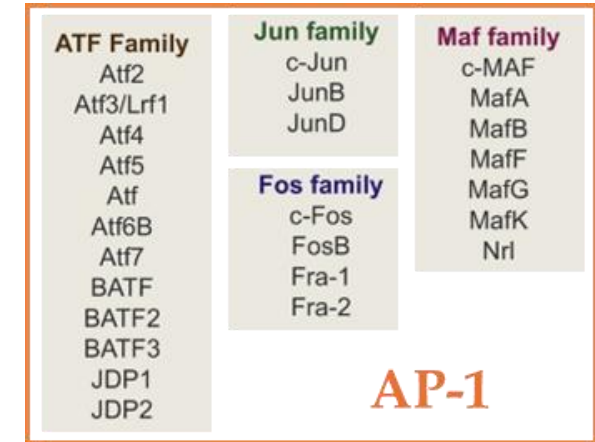
- ❖ c-Jun / Junb / Junb | c-Fos / Fosb

- ❖ Junb au centre dans le GRN Top 40

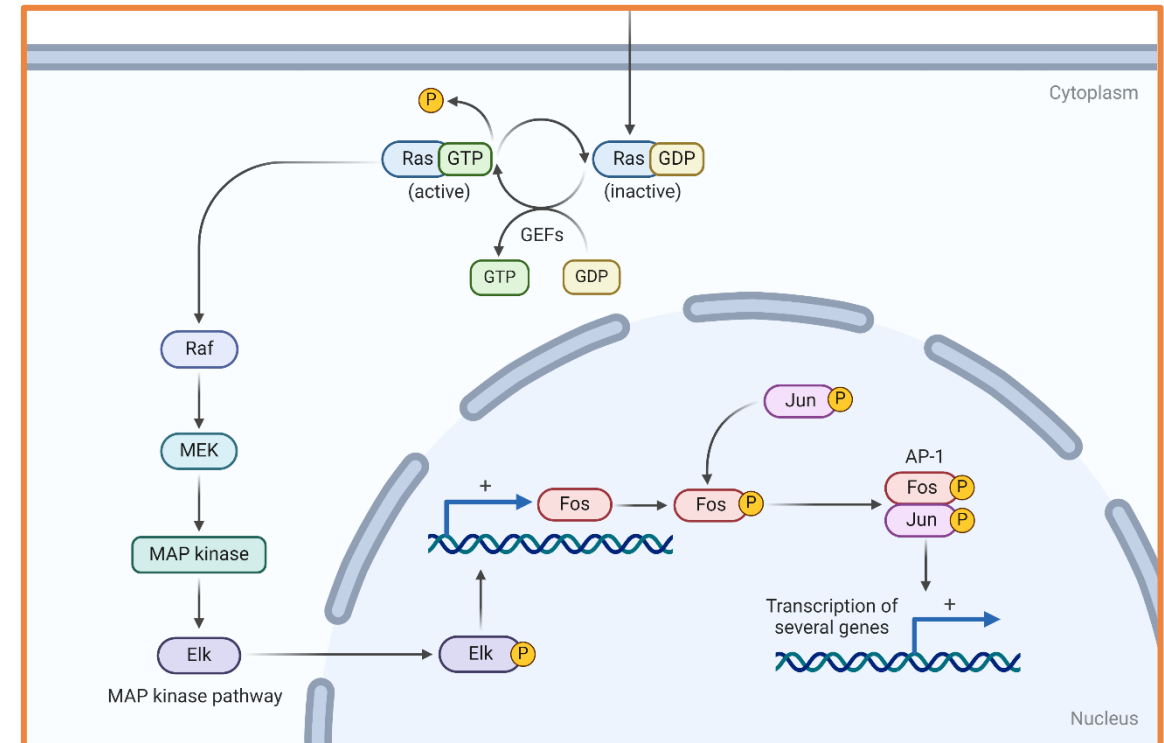
La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

Fos / Jun

- ❖ Collection de dimères, principalement c-Fos/c-Jun qui forme AP-1
- ❖ AP-1 fixe principalement des séquences distales et agit comme un *enhancer*
- ❖ Rôles connus dans la *fibrose* ; rejet de greffon ; *cancer* ; etc.
- ❖ La *pléiotropie* de ses actions en fait une *cible privilégiée* (Div. cell., apoptose, senescence, diff., migration cell., immunité, inflammation, etc.)
- ❖ AP-1 → « Fos » / « Jun »



D'après Beijani F. Biochem Biophys Acta Rev Cancer. 2019 Aug;1872(1):11-23

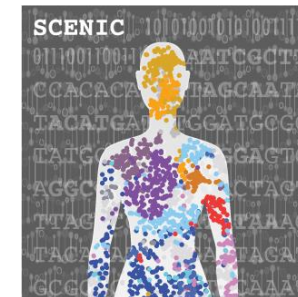
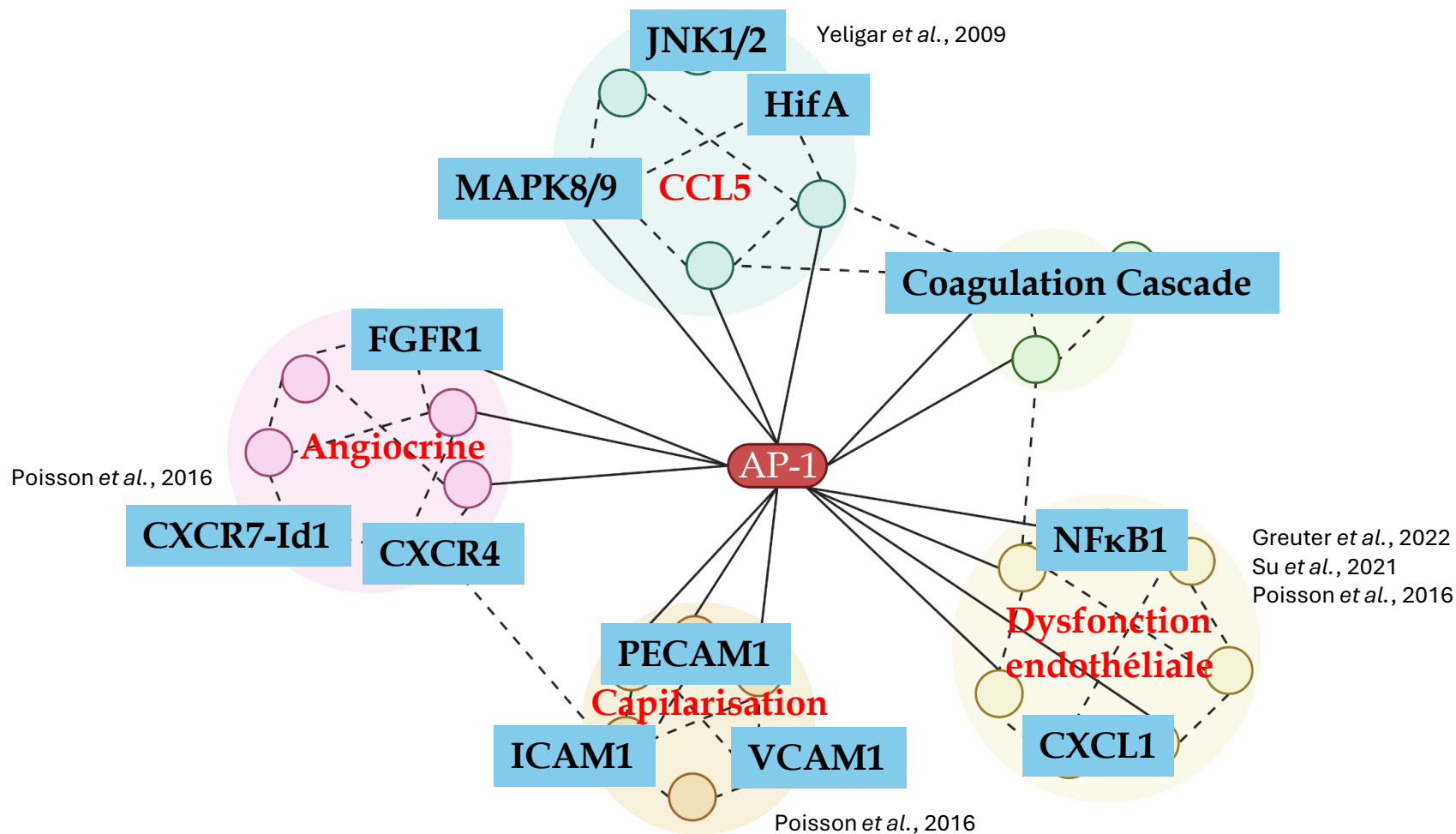


La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

LSECs

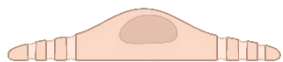


Réseau de régulation des gènes (GRN)

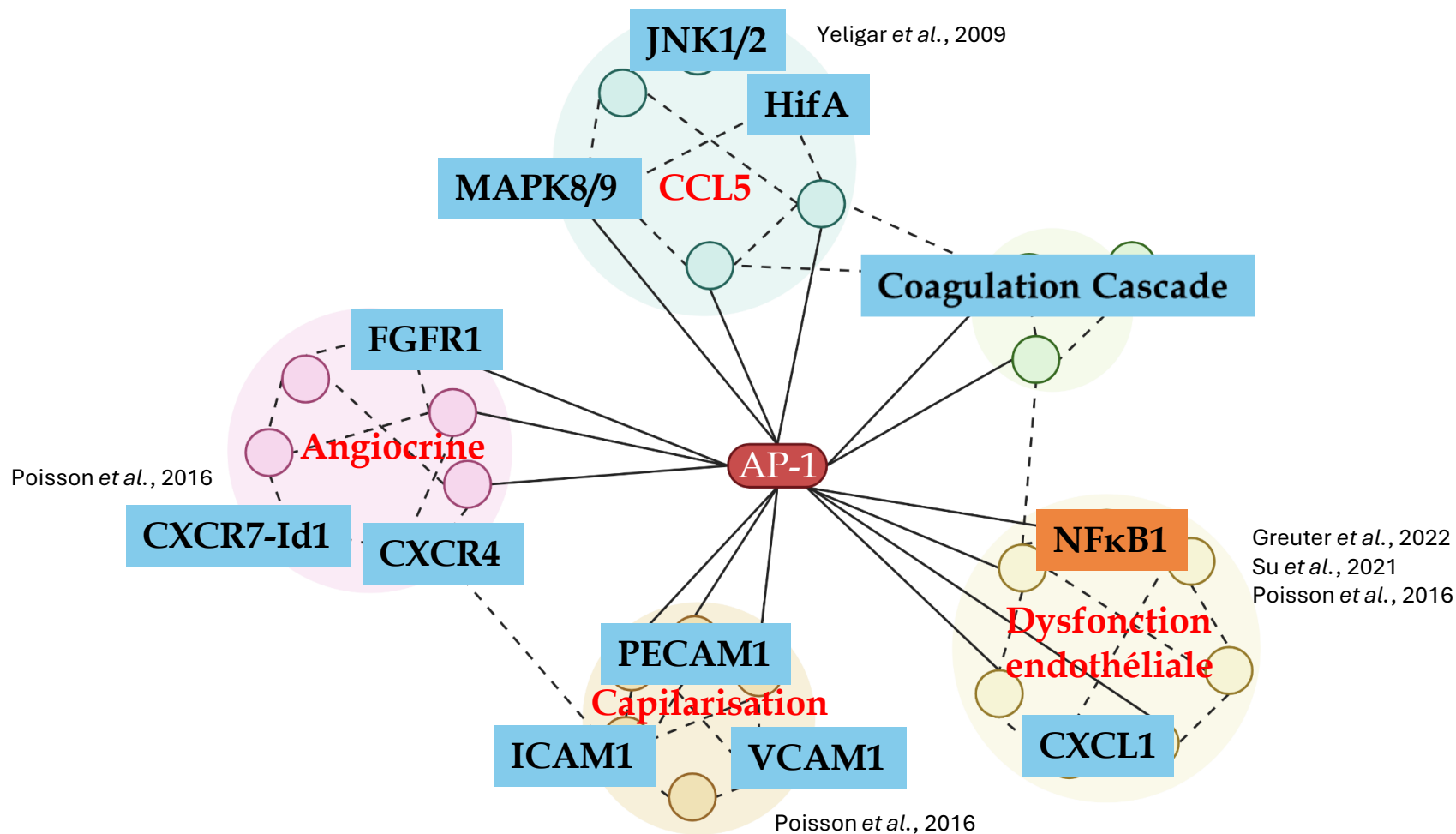


La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

LSECs

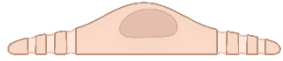


Réseau de régulation des gènes (GRN)



La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

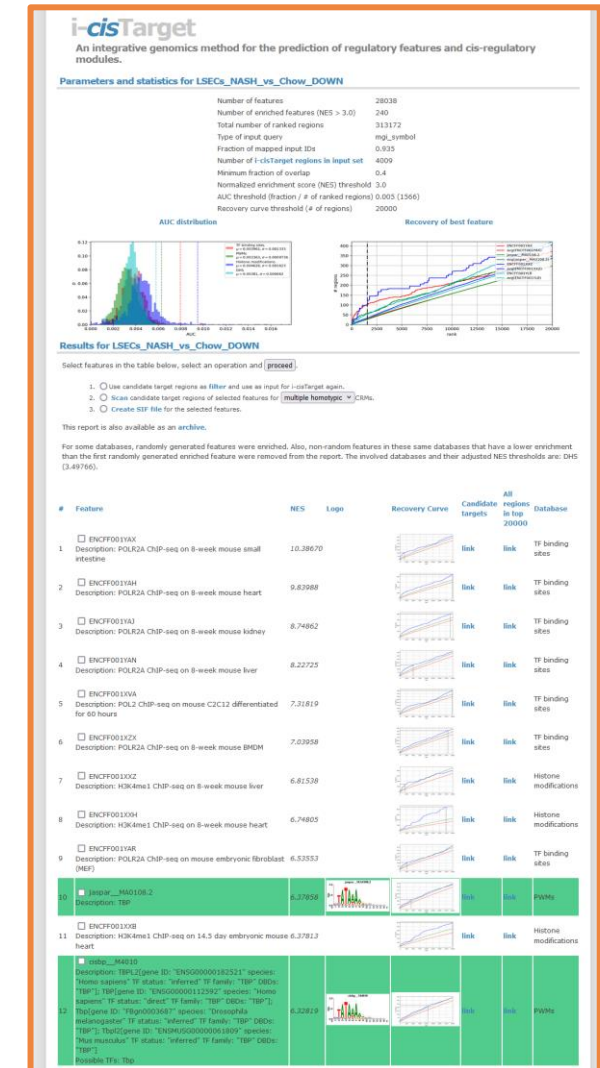
LSECs



FTs dérégulés

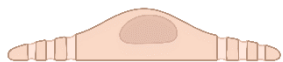
i-cisTarget

- ❖ Inférence de **motifs cis-régulateurs** dans une liste de gènes dérégulés
- ❖ **HSF1** : *Heat Shock Factor 1*
 - ❖ Limite la stéatose (Breternitz *et al.*, 2022)
 - ❖ Régule l'action des statines sur la thrombomoduline (Fu *et al.*, 2008)
- ❖ **NFκB1** : *nuclear factor kappa B subunit 1*
 - ❖ Régule l'expression du gène du facteur tissulaire (Li *et al.*, 2009)
 - ❖ Régule l'activation des *hepatic stellate cells* (HSCs) responsables de la fibrose (Luedde *et al.*, 2011)
 - ❖ Promeut hypertension portale et le *shearstress* par sa regulation de CXCL1 (Greuter *et al.*, 2022)



La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

LSECs

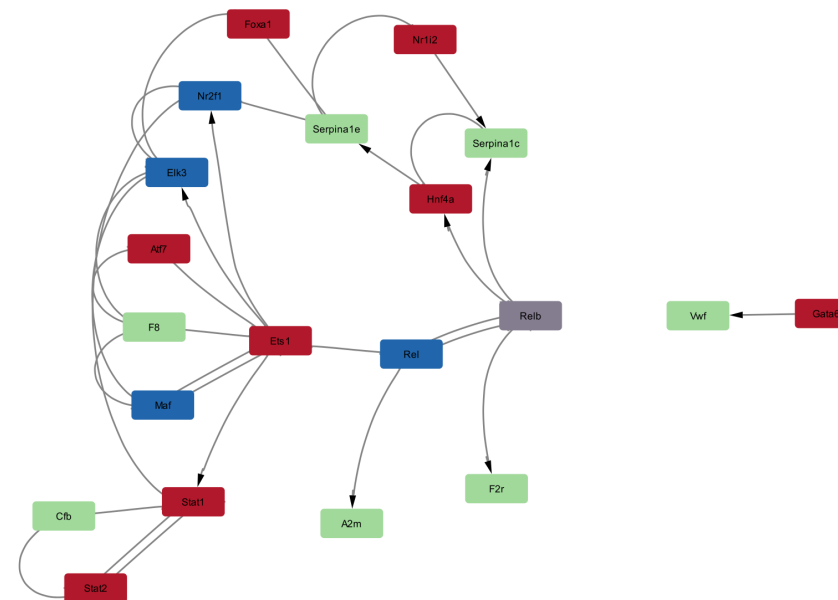


Conclusion

- ❖ Analyse comparative *a posteriori* et **préliminaire** permettant d'identifier un complexe moléculaire important lors d'une MASH
- ❖ **AP-1** semble avoir un rôle important dans **la dérégulation de la cascade de coagulation et la perte de spécification des LSECs**
- ❖ Cela en ferait une **cible particulièrement intéressante** pour les pathologies du spectre MASLD

Perspectives

- ❖ Vérifier cette inférence (*in vitro* LSECs, modèle murin)
- ❖ Détailler les mécanismes moléculaires
- ❖ Identifier un FT dérégulé causal → peut-être **NFκB1**
- ❖ Investiguer les **hépatocytes** dès que possible
- ❖ Passer à l'humain



La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

Remerciements

UMR 1011:

Pr. Sophie Susen
Pr. Annabelle Dupont
Dr. Mickaël Rosa
Dr. Joel Haas
Dr. Johan Abdoul
Pr. Bart Staels

Toute l'équipe 2 !



Financement :

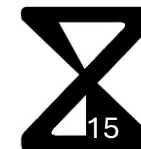
ERC – Metabo3DC



European Research Council
Established by the European Commission

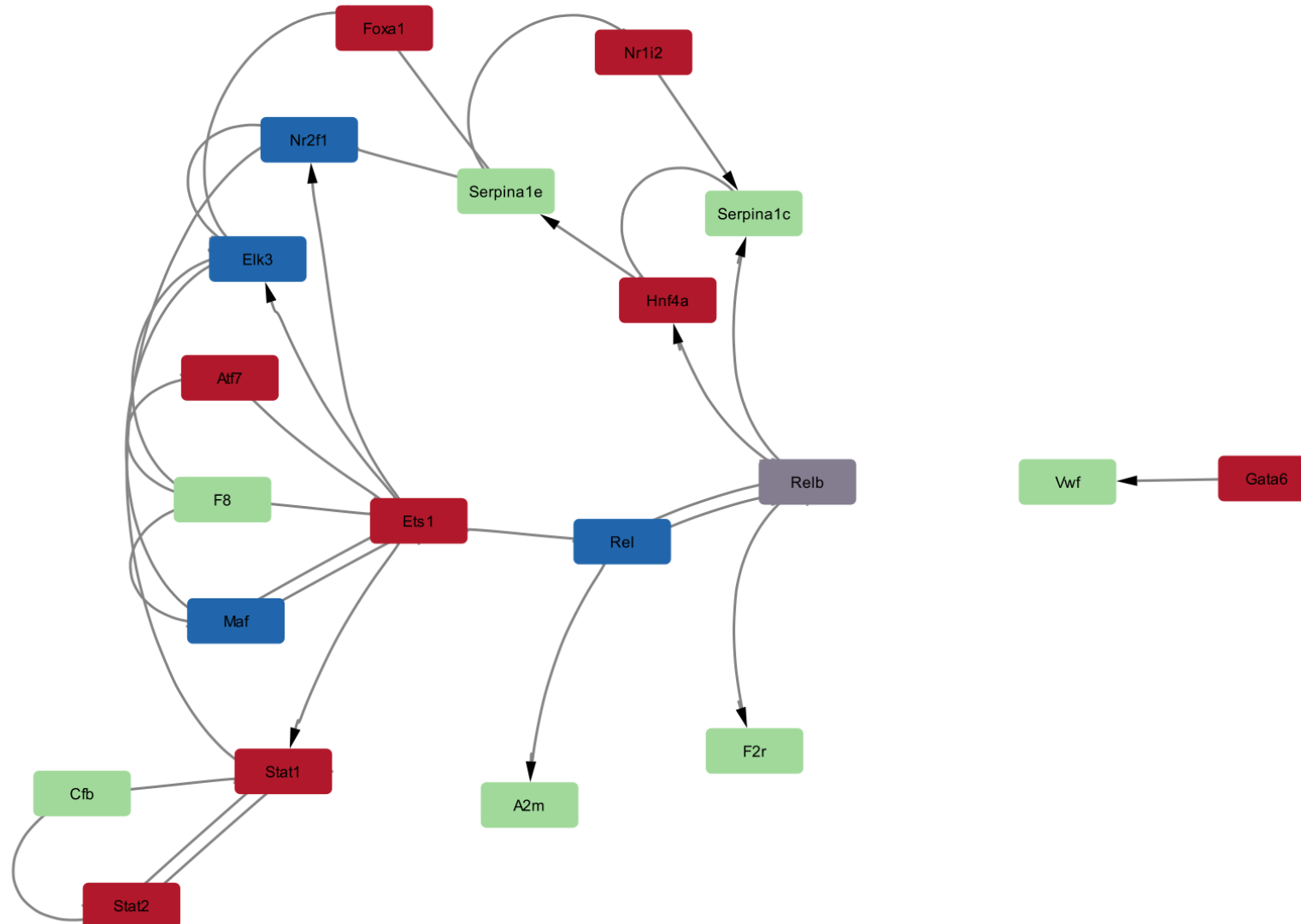


European Research Council
Established by the European Commission



La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

NFKB1 GRN

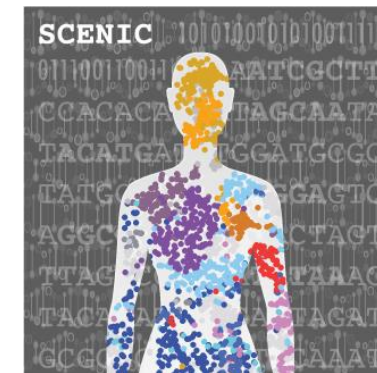
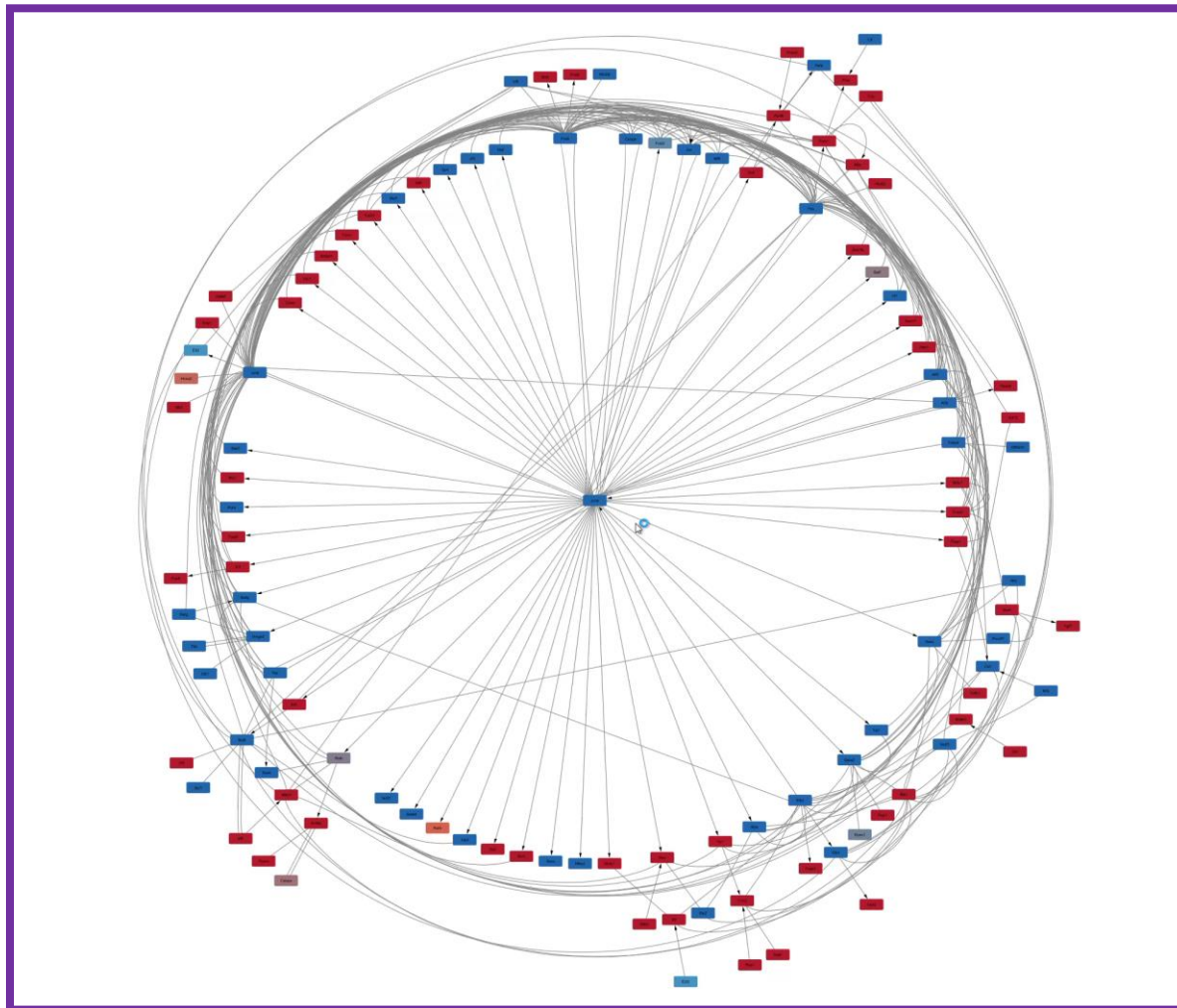


La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

LSECs

Réseau de régulation des gènes (GRN)

- ❖ GRN global puis un GRN spécifique avec le top 40 des FTs dérégulés et leurs cibles directes

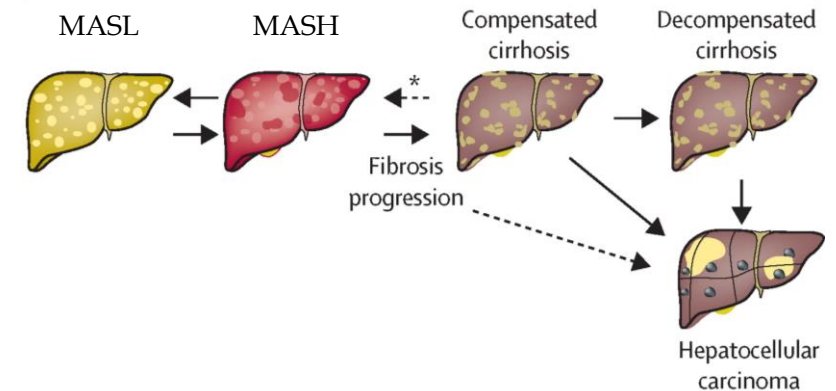


La stéatose hépatique et les troubles de la coagulation associés

MASLD

- ❖ MASLD (*Metabolic dysfunction-Associated Steatotic Liver Diseases*)
 - ❖ Accumulation de lipides dans les hépatocytes
 - ❖ Large spectre de pathologies
 - ❖ Expression hépatique du syndrome métabolique
 - ❖ Prévalence de 38 % (Paik *et al.*, 2020 & Younossi *et al.*, 2023)

- ❖ MASH (*Metabolic dysfunction-Associated SteatoHepatitis*)
 - ❖ 1^{er} stade pathologique
 - ❖ Ballonisation des hépatocytes, inflammation et fibrose
 - ❖ étiologies complexes
 - ❖ Complications hépatiques et extra-hépatiques



Powell E. The Lancet. 2021 Jun; Vol 397; Issue 10290 ; 2212-2224

