

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : BS-Physiologie, Physiopathologie, Biologie Systémique Médicale

Par

Marie PALARD

Rôle des sites de contact entre le réticulum endoplasmique, la mitochondrie et la gouttelette lipidique dans l'homéostasie adipocytaire

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 17 septembre 2025

Unité de recherche : L'Institut du Thorax, INSERM UMR 1087 / CNRS UMR 6291

Rapporteurs avant soutenance :

Marthe MOLDES Chargée de recherche, HDR, INSERM U938 – CRSA, Paris
Dominique LANGIN PU-PH, HDR, INSERM UMR 1297 – I2MC, Toulouse

Composition du Jury :

Président :	Prénom Nom	Fonction et établissement d'exercice (8)(à préciser après la soutenance)
Examineurs :	Jérôme GILLERON	Chargé de recherche, HDR, INSERM U1065 – C3M, Nice
	Francesca GIORDANO	Directrice de recherche, HDR, CNRS – I2BC, Gif-Sur-Yvette
Dir. de thèse :	Xavier PRIEUR	PU, HDR, Univ. De Nantes, INSERM U1087 – Institut du Thorax

Titre : Rôle des sites de contact entre le réticulum endoplasmique, la mitochondrie et la gouttelette lipidique dans l'homéostasie adipocytaire.

Mots clés : adipocyte, tissu adipeux, obésité, mitochondrie, gouttelette lipidique, seipine

Résumé : L'obésité est un facteur de risque majeur des maladies cardiométaboliques, notamment en raison d'une dysfonction adipocytaire altérant le stockage lipidique et favorisant leur accumulation ectopique. La lipodystrophie généralisée, forme extrême de dysfonction adipocytaire, est liée dans 50% des cas à une mutation du gène BSCL2 codant pour la Seipine, protéine du réticulum endoplasmique (RE), essentielle à la biogenèse des gouttelettes lipidiques (GL) et à leur maintien. La Seipine est aussi retrouvée aux jonctions RE/mitochondries (MAM) où elle module les échanges calciques.

Notre étude explore si la localisation de la Seipine aux MAMs et aux sites RE/LD est exclusive, et les conséquences de son absence sur les sites de contact membranaires (MCS) et le métabolisme adipocytaire. Dans des modèles cellulaires d'absence de seipine, des analyses de microscopie électronique à transmission (TEM)

et des tests de proximité (PLA), révèlent des altérations des MCS impliquant le RE, la GL et la mitochondrie. Fonctionnellement, l'absence de seipine compromet le transfert de lipides vers la GL, et cette fonction est restaurée par le Linker-5, peptide renforçant les MAM. Un chargement en lipides augmente les contacts RE/GL, et mitochondrie/GL, mais modifie différemment les MAM: l'oléate favorise les MAM-GL tout en réduisant les MAM "classiques", MAM-CM. Ce remodelage est altéré dans le TA de souris obèses, et la perturbation des MCS dans des adipocytes 3T3L1 entraîne une altération du flux de lipides, de la lipolyse et de la sensibilité à l'insuline. Ces résultats soulignent l'importance des MAM-LD dans la flexibilité métabolique de l'adipocyte, et suggèrent que leur dérégulation pourrait contribuer à l'inflexibilité métabolique caractéristique de l'obésité.

Title : Role of contact sites between endoplasmic reticulum, mitochondria, and lipid droplet in adipocyte homeostasis.

Keywords : adipocyte, adipose tissue, obesity, mitochondria, lipid droplet, seipin

Abstract: Obesity is a major risk factor for cardiometabolic diseases, largely due to adipocyte dysfunction that impairs lipid storage and promotes ectopic lipid accumulation. Generalized lipodystrophy, the most severe form of adipocyte dysfunction, is caused in 50% of cases by mutations in BSCL2 gene coding for Seipin, a endoplasmic reticulum (ER) protein, essential for lipid droplet (LD) biogenesis and maintenance. Seipin is also found in ER/mitochondria (MAM) junctions, where it controls calcium exchange. This study investigates the role of Seipin in membrane contact sites (MCS) dynamics and its impact on adipocyte metabolism. In Seipin-deficient models, proximity ligation assay (PLA) and transmission electron microscopy (TEM) revealed altered MCS involving ER, mitochondria, and LD.

Seipin absence impaired triglyceride transfer to LD, an effect rescued by the synthetic peptide Linker-5, which enhances MAM. Lipid loading increased ER/LD and mitochondria-LD contacts but differentially affected MAM: oleic acid promoted mitochondria-LD MAM (MAM-LD) while reducing "classical" MAM (MAM-CM). This adaptive remodeling was disrupted in adipose tissue of diet-induced obese mice. Furthermore, genetic disruption of MCS in 3T3-L1 adipocytes led to impaired lipid flux, reduced lipolysis and weakened insulin signaling. Altogether, these findings highlight a critical role of MAM-LD in maintaining adipocyte metabolic flexibility and suggest that their dysregulation may contribute to metabolic inflexibility characteristic of obesity.