

Structure et fonction du récepteur $\beta 3$ -adrénergique

Le traitement chronique d'animaux obèses par des agents sélectivement lipolytiques induit une perte de poids et restaure la sensibilité à l'insuline. Un nouveau récepteur des catécholamines — le récepteur $\beta 3$ -adrénergique —, qui semble être la cible privilégiée de ces agents, a été récemment caractérisé dans les tissus adipeux et dans le tractus digestif. Bien que ces produits soient considérablement moins efficaces chez l'homme que chez les rongeurs, la modélisation de la structure tridimensionnelle des récepteurs β -adrénergiques permet d'envisager la conception d'agents pharmacologiques plus actifs et plus sélectifs vis-à-vis de ce récepteur. Par leur action sur les récepteurs $\beta 3$ -adrénergiques du tissu adipeux et de l'intestin, de tels agents pourraient aider à traiter ou à prévenir certaines formes d'obésité et de diabète.

Laurent Emorine
Donny Strosberg

ADRESSE

L. Emorine : directeur de recherche au Cnrs. Cnrs UPR 415. D. Strosberg : professeur, directeur du laboratoire d'immunopharmacologie moléculaire. Cnrs UPR 415, Université Paris VII, Institut Cochin de génétique moléculaire, 22, rue Méchain, 75014 Paris, France.

TIRÉS A PART

A.D. Strosberg.

La noradrénaline et l'adrénaline sont des neuromédiateurs et hormones qui maintiennent l'homéostasie principalement par leur action sur les fonctions cardiovasculaire et respiratoire et sur le métabolisme énergétique. Dans tous les tissus, la réponse physiologique implique des récepteurs membranaires, dits adrénergiques, qui, après liaison avec l'hormone, activent des protéines régulatrices (protéines G). Celles-ci transmettent le signal vers un système effecteur intracellulaire dont les produits intermédiaires, ou seconds messagers, modulent l'activité des cellules cibles. Les propriétés pharmacologiques et les effets tissulaires de divers analogues hormonaux ont suggéré l'existence de plusieurs types de récepteurs, notamment les récepteurs α et β -adrénergiques [1], eux-mêmes répartis en sous-types $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ et $\beta 2$ [2]. Les récepteurs $\alpha 1$ stimulent

la phospholipase C, provoquant la dégradation du phosphatidylinositol et l'augmentation du calcium intracytoplasmique. Les trois autres types de récepteurs agissent sur l'activité de l'adénylate cyclase, provoquant, dans le cas des récepteurs $\beta 1$ et $\beta 2$, une élévation, ou, dans le cas des récepteurs $\alpha 2$, une diminution du taux d'AMP cyclique (AMPC) intracellulaire.

La distinction entre les récepteurs α - et β -adrénergiques et leur classification ultérieure en sous-type $\alpha 1$ - $\alpha 2$ et $\beta 1$ - $\beta 2$ -adrénergiques a servi de support théorique au développement d'agonistes et d'antagonistes sélectifs de chacun de ces récepteurs. Par leurs actions sur la contractilité des muscles lisses et cardiaques, certains de ces composés se sont révélés très efficaces dans le traitement de maladies, principalement cardiovasculaires (antagonistes β -adrénergiques) et respiratoires (agonistes $\beta 2$ -mimétiques). Cepen-

Tableau I			
PROPRIÉTÉS DES TROIS RÉCEPTEURS β-ADRENERGIQUES HUMAINS			
	β1	β2	β3
Gène et ARNm			
Locus chromosomique	10q24 → q26	5q32 → q34	8p11.1 → 8p12
Introns	non	non	oui
Taille des ARNm (kb)	2,6	2,2	2,3
Protéine			
Nombre d'acides aminés	477	413	408
Sites de phosphorylation par PKA ou βARK	oui	oui	non
Pharmacologie			
Catécholamine la plus puissante	Noradrénaline	Adrénaline	Noradrénaline
Agoniste sélectif	Xamotérol	Procatérol	ICI 201651 / BRL 37344 ^a
Antagoniste sélectif	CGP 20712A	ICI 118551	— ^b
Protéine G	Gs	Gs	Gs
Effecteur	Adénylate cyclase	Adénylate cyclase	Adénylate cyclase
Tissu où il prédomine	Cœur	Poumon	Tissu adipeux

^a: le BRL 37344 est sélectif des récepteurs β3 de rongeur mais est peu efficace chez l'homme. L'ICI 201651, comme le CGP 12177 et le bucindolol sont, dans les deux espèces, agonistes sur β3 et antagonistes sur β1 et β2.

^b: aucun antagoniste sélectif du récepteur β3-adrénergique n'est connu à ce jour.

dant, alors que les catécholamines ont une influence marquée sur le métabolisme énergétique (lipides et hydrates de carbone), la possibilité d'utiliser de tels produits pour soigner des troubles métaboliques comme l'obésité et le diabète de type II a été peu explorée.

La situation a évolué lorsque certains effets des catécholamines, difficilement explicables par la classification en cours, ont laissé envisager l'existence de sous-types de récepteurs α- et β-adrénergiques supplémentaires, cibles potentielles de nouveaux agents pharmacologiques. Par exemple, la lipolyse et la thermogénèse du tissu adipeux, la relaxation des muscles intestinaux et l'accrétion protéique dans le muscle squelettique sont difficilement inhibées par de puissants β-bloquants comme le propranolol et l'alprénolol, mais sont, en revanche, induites par des agonistes β-adrénergiques n'ayant que peu d'effets dans les

modèles d'études des récepteurs β1 et β2 [3-5].

Dans cet article, nous présenterons les travaux qui ont abouti à la caractérisation du récepteur β3-adrénergique et les résultats qui suggèrent que celui-ci tient un rôle important dans le contrôle de la balance énergétique.

Caractérisation du récepteur β3-adrénergique

Le gène du récepteur β3-adrénergique

Sur la base des homologies structurales existant entre des molécules fonctionnellement voisines, nous avons utilisé des sondes nucléiques dérivées des régions codantes des gènes des récepteurs β1 et β2-adrénergiques pour rechercher d'autres gènes homologues dans une bibliothèque d'ADN humain [6]. Un des clones isolés contenait un gène codant pour une protéine de

408 acides-aminés — identifiée ensuite comme le récepteur β3-adrénergique — dont l'homologie de séquence avec les récepteurs β1 et β2 est respectivement de 50,7 % et 45,5 % alors qu'elle est de 48,9 % entre ces deux derniers (figure 1). Ce gène a aussi été caractérisé chez la souris [7] et le rat [8, 9].

Dans la famille des récepteurs adrénérgiques, les gènes codant pour les récepteurs β3 sont les seuls, avec ceux des récepteurs α1B, à contenir des introns [10, 11]. Chez l'homme et la souris, la majorité de la région codante du récepteur β3 (respectivement 402 et 388 acides aminés) est contenue dans un grand exon d'environ 1,4 kilobase (kb). Chez l'homme, le reste de la protéine (6 acides aminés) et la totalité de la région 3' non traduite sont portés par un deuxième exon de 600 paires de bases (pb), séparé du premier par un intron de 1 kb. Chez la souris, un deuxième exon (68 pb) code pour les 12 résidus C-terminaux du récepteur et un troisième exon (700 pb) contient la région 3' non traduite; des introns d'environ 500 et 300 pb séparent respectivement les exons 1 et 2 et les exons 2 et 3. Des phénomènes d'épissage alternatif chez la souris, ou de continuation de la transcription au-delà des signaux de terminaison chez l'homme, produisent des ARN messagers qui diffèrent dans leurs extrémités 3' non traduites [11]. Ces diverses molécules pouvant présenter des stabilités différentes, leur niveau d'expression et, par conséquent, celui du récepteur β3, peut être modulé différemment en fonction du tissu et des conditions physiologiques.

D'autres contrôles s'exercent au niveau de l'expression des gènes: sous l'effet des glucocorticoïdes, la synthèse de l'ARN du récepteur β2 et de la protéine correspondante augmente considérablement alors que les ARN messagers et les sites de liaison β1 et β3 deviennent presque indécélables [12, 13]. Cette régulation par les glucocorticoïdes a été rapprochée du fait que dans la partie 5' de β2 on trouve des séquences consensus de sites d'interaction avec le récepteur de ces sté-

RÉFÉRENCES

1. Ahlquist RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 1948; 153: 586-600
2. Lands AM, Arnold A, Mc Auliff JP, Luduena FP, Brown TG. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 1967; 214: 597-8.
3. Arch JRS. The brown adipocyte β -adrenoceptor. *Proc Nutr Soc* 1989; 48: 215-23.
4. Arch JRS, Cawthorne MA, Coney KA, et al. β -adrenoceptor-mediated control of thermogenesis, body composition and glucose homeostasis. In: Rothwell NJ, Stock MJ, eds. *Obesity and Cachexia*. London: John Wiley and Sons, 1991: 241-68.
5. Zaagsma J, Nahorski SR. Is the adipocyte β -adrenoceptor a prototype for the recently cloned atypical β 3-adrenoceptor. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 3-7.
6. Emorine LJ, Marullo S, Briend-Sutren MM, et al. Molecular characterization of the human β 3-adrenergic receptor. *Science* 1989; 245: 1118-21.
7. Nahmias C, Blin N, Elalouf JM, et al. Molecular characterization of the mouse β 3-adrenergic receptor: relationship with the atypical receptor of adipocytes. *EMBO J* 1991; 10: 3721-7.
8. Granneman JG, Lahners KN, Chaudhry A. Molecular cloning and expression of the rat β 3-adrenergic receptor. *Mol Pharmacol* 1991; 40: 895-9.
9. Muzzin P, Revelli JP, Kuhne F, et al. An adipose tissue-specific β -adrenergic receptor. Molecular cloning and down-regulation in obesity. *J Biol Chem* 1991; 266: 24053-8.
10. Granneman JG, Lahners KN, Rao DD. Rodent and human β 3-adrenergic receptor genes contain an intron within the protein-coding block. *Mol Pharmacol* 1992; 42: 964-70.
11. Van Spronsen A, Nahmias C, Krief S, et al. The promoter and intron/exon structure of the human and mouse β 3-adrenergic receptor genes. *Eur J Biochem* 1993; 213: 1117-24.
12. Fève B, Emorine LJ, Sutren MM, et al. Differential regulation of β 1- and β 2 adrenergic receptor protein and mRNA levels by glucocorticoids during 3T3-F442A adipose differentiation. *J Biol Chem* 1990; 265: 16343-9.
13. Fève B, Baude B, Krief S, et al. Inhibition by dexamethasone of β 3-adrenergic receptor responsiveness in 3T3-F442A adipocytes: evidence for a transcriptional mechanism. *J Biol Chem* 1992; 267: 15909-15.
14. Diamond MI, Miner JN, Yoshinaga SK, Yamamoto KR. Transcription factor interactions: selectors of positive and negative regulation from a single DNA element. *Science* 1990; 249: 1266-72.

roïdes. Des séquences analogues sont retrouvées dans le gène du récepteur β 3 mais proches de sites de liaison du facteur de transcription AP-1 [11]. Dans d'autres gènes, une telle proximité conduit à une régulation négative par les glucocorticoïdes [14].

De la même façon, les acides gras volatils, en particulier le butyrate, stimulent au niveau transcriptionnel la synthèse des récepteurs β 1 et β 2 alors qu'ils inhibent celle du récepteur β 3 [15].

Si, comme nous l'envisagerons plus loin, chaque récepteur β -adrénergique peut agir préférentiellement sur une voie métabolique particulière, de tels phénomènes de régulation différentielle permettraient à un tissu exprimant plusieurs sous-types de récepteurs β -adrénergiques (sans mentionner les récepteurs α -adrénergiques) d'adapter sa sensibilité aux catécholamines et son métabolisme aux variations du milieu environnant.

Pharmacologie du récepteur β 3-adrénergique

Pour analyser et comparer les propriétés pharmacologiques des trois récepteurs β -adrénergiques humains, les gènes correspondants ont été introduits dans des cellules de hamster (cellules CHO) initialement dépourvues de récepteurs β -adrénergiques. Trois lignées cellulaires (CHO- β 1, CHO- β 2 et CHO- β 3), ne différant que par leur capacité à exprimer les récepteurs β -adrénergiques humains, ont ainsi été produites [6, 16].

Dans les cellules CHO- β 1, CHO- β 2 et CHO- β 3, les agonistes β -adrénergiques induisent une augmentation du taux d'AMPc avec un ordre d'efficacité relative caractéristique de chaque lignée cellulaire. En particulier, des produits de la classe des phénéthanolamines (ICI 201651, CL 316243, LY 79771), qui sont, chez les rongeurs, de puissants effecteurs de la lipolyse adipocytaire, sont parmi les agonistes les plus sélectifs sur les cellules CHO- β 3. Par ailleurs, la plupart des β -bloquants classiques sont inactifs dans cette lignée, suggérant une faible affinité de ces produits pour le récepteur β 3. Cela est

confirmé par les propriétés de liaison, sur chaque type cellulaire, de deux radio-antagonistes des récepteurs β -adrénergiques, le [125 I]-iodocyanopindolol et le [3 H]-CGP 12177. Les constantes de dissociation de ces deux composés vis-à-vis des récepteurs β 3 sont dix fois supérieures à celles observées vis-à-vis des récepteurs β 1 et β 2. De façon remarquable, des antagonistes β 1 et β 2 — dont certains (oxprénolol, pindolol, alprénolol) sont connus pour leur activité sympathomimétique intrinsèque — se comportent comme des agonistes du récepteur β 3. En particulier, le CGP-12177 et l'ICI 201651 augmentent la production d'AMPc dans les cellules CHO- β 3 alors qu'ils la bloquent dans les lignées CHO- β 1 et CHO- β 2. Cela est à rapprocher de l'observation montrant que le CGP 12177 stimule la lipolyse dans les adipocytes de rat [17].

Relation structure/fonction des récepteurs β -adrénergiques

Le modèle du récepteur β 2-adrénergique

Les structures primaires des récepteurs β 3-adrénergiques d'homme, de souris et de rat sont comparées dans la figure 1 aux séquences des récepteurs β 1 et β 2 humains. Chaque récepteur partage, avec les autres récepteurs couplés aux protéines G, une structure comprenant sept régions d'une vingtaine d'acides aminés majoritairement hydrophobes. La séquence de ces segments et des régions avoisinantes est très conservée entre des récepteurs appartenant à une même famille ou à une famille proche, définie par la nature des hormones reconnues. Dans un modèle, inspiré de celui de la bactériorhodopsine [18], les sept segments hydrophobes sont transmembranaires et constituent une poche de structure globulaire (figure 2). Ils sont reliés entre eux par des boucles hydrophiles successivement intrapuis extracellulaires. Les chaînes latérales des résidus hydrophobes des domaines membranaires sont tournées vers l'extérieur de la poche et stabilisent les interactions avec la membrane, alors que celles des rési-

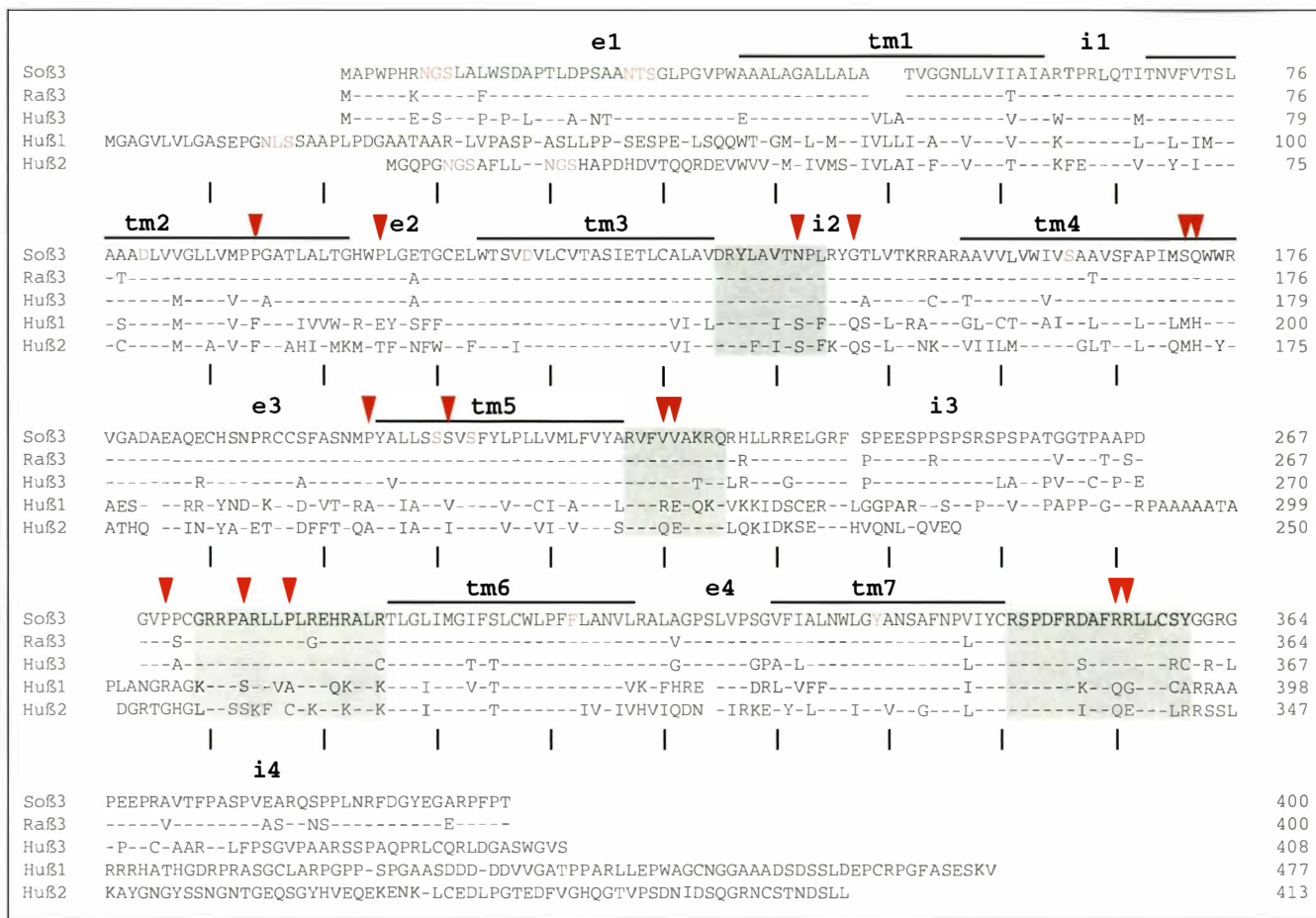


Figure 1. Comparaison de la séquence en acides aminés des récepteurs adrénergiques β_1 , β_2 et β_3 humaine (Hu β_1 , Hu β_2 et Hu β_3) et β_3 de rat (Ra β_3) à celle du récepteur β_3 de souris (So β_3). Chez l'homme et le rat, un tiret horizontal indique l'identité avec le résidu occupant la même position dans la séquence de la souris. Des délétions, matérialisées par des espaces blancs, ont été introduites pour optimiser les alignements. La position dans la séquence de l'acide aminé à la fin de chaque ligne est indiquée dans la colonne de droite et un tiret vertical marque les dizaines de résidus. Dans les segments transmembranaires (tm1 à tm7), les acides aminés impliqués dans la liaison des catécholamines (figure 3) sont en rouge. Les domaines extracellulaires et intracellulaires sont numérotés de e1 à e4 et i1 à i4, respectivement. Dans ces derniers, les rectangles gris montrent les régions interagissant avec la protéine G. Dans les régions amino-terminales, les sites potentiels de glycosylation (NXS) sont soulignés. Un triangle rouge indique certains résidus spécifiques des récepteurs β (c'est-à-dire conservés entre les séquences des récepteurs β_3 mais non dans celles des récepteurs β_1 et β_2) qui modifient la charge ou la structure des domaines des récepteurs interagissant avec les ligands ou les protéines G.

dus hydrophiles sont orientées vers l'intérieur et peuvent participer à la reconnaissance des ligands. La région N-terminale de la molécule est extracellulaire et la partie C-terminale cytoplasmique. Les trois récepteurs β -adrénergiques sont glycosylés dans leur région N-terminale et ont un poids moléculaire d'environ 65 kDa.

Le marquage par affinité et la mutagenèse dirigée [19, 20] ont permis d'analyser le site de liaison du

récepteur β_2 et d'en proposer des modèles moléculaires. Il comporte des acides aminés impliqués dans la stabilisation de la structure du site, dans la reconnaissance des ligands et dans la transduction du signal vers les régions cytoplasmiques [21-24]. Ces résidus sont retrouvés dans les trois récepteurs β -adrénergiques et souvent dans d'autres récepteurs de neurotransmetteurs (dopamine, acétylcholine et sérotonine), mais non dans les

récepteurs de ligands peptidiques. L'implication de ces résidus dans la liaison de la noradrénaline sur le récepteur β_3 -adrénergique, et dans l'activation du récepteur, est schématisée dans la figure 3.

L'action des récepteurs β -adrénergiques sur l'activité cellulaire dépend de leur interaction avec une protéine G stimulatrice (Gs) composée d'une sous-unité α stimulatrice (α_s) associée à un hétérodimère $\beta\gamma$. Le couplage des récepteurs avec Gs

RÉFÉRENCES

15. Krief S, Fève B, Baude B, Zilberfarb V, Strosberg AD, Pairault J, Emorine LJ. Transcriptional modulation by n-butyric acid of $\beta 1$ -, $\beta 2$ - and $\beta 3$ -adrenergic receptor balance in 3T3-F442A adipocytes. *J Biol Chem* 1993 (sous presse).
 16. Tate KM, Briend-Sutren MM, Emorine LJ, et al. Expression of three human β -adrenergic-receptor subtypes in transfected Chinese hamster ovary cells. *Eur J Biochem* 1991; 196: 357-61.
 17. Mohell N, Dicker A. The β -adrenergic radioligand [^3H]CGP-12177, generally classified as an antagonist, is a thermogenic agonist in brown adipose tissue. *Biochem J* 1989; 261: 401-5.
 18. Henderson R, Baldwin J, Ceska TH, et al. Model for the structure of bacteriorhodopsin based on high resolution electron cryomicroscopy. *J Mol Biol* 1990; 213: 899-929.
 19. Strader CD, Sigal IS, Register RB, et al. Identification of residues required for ligand binding to the β -adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 4384-8.
 20. Kobilka B. Adrenergic receptors as models for G-proteins-coupled receptors. *Ann Rev Neurosci* 1992; 15: 87-114.
 21. Hibert MF, Trumpp-Kallmeyer S, Bruinvels A, Hoflack J. Three-dimensional models of neurotransmitter GTP-binding protein-coupled receptors. *Mol Pharmacol* 1991; 40: 8-15.
 22. Maloney-Huss K, Lybrand TP. Three-dimensional structure for the $\beta 2$ adrenergic receptor protein based on computer modelling studies. *J Biol Chem* 1992; 267: 859-71.
 23. Strosberg AD, Camoin L, Blin N, Maigret B. In receptor coupled to GTP-binding protein, ligand binding and protein activation is a multistep dynamic process. *Drug Design Discovery* 1993; 9: 199-211.
 24. Hibert MF, Hoflack J, Trumpp-Kallmeyer S, Bruinvels A. Modèles tridimensionnels des récepteurs couplés aux protéines G. *médecine/sciences* 1993; 9: 31-40.
 25. Marullo S, Emorine L, Strosberg A, Delavier-Klutchko C. Selective binding of ligands to $\beta 1$, $\beta 2$ or chimeric $\beta 1/\beta 2$ -adrenergic receptors involves multiple subsites. *EMBO J* 1990; 9: 1471-6.
 26. Kleuss C, Scherübl H, Hescheler J, Schultz G, Wittig B. Different β -subunits determine G-protein interaction with transmembrane receptors. *Nature* 1992; 358: 424-6.
 27. Kleuss C, Scherübl H, Hescheler J, Schultz G, Wittig B. Selectivity in signal transduction determined by γ subunits of heterotrimeric G protein. *Science* 1993; 259: 832-4.
- peut être modulé par des kinases impliquées dans ce qu'il est convenu d'appeler la désensibilisation, ou atténuation, de la réponse adrénergique. Les domaines du récepteur $\beta 2$ -adrénergique impliqués dans le couplage avec Gs sont des segments à structure en hélice amphiphile qui se trouvent dans les régions intracellulaires à l'interface membrane/cytoplasme (figure 1). Le découplage hétérologue du récepteur $\beta 2$ et de Gs nécessite la phosphorylation du résidu sérine 262 par une kinase dépendante de l'AMPc (PKA). La désensibilisation homologue implique, quant à elle, la phosphorylation de résidus sérine et thréonine de la région C terminale du récepteur par une kinase spécifique dénommée β -adrenergic receptor kinase (β ARK).

Particularités structurales du récepteur $\beta 3$ -adrénergique

La comparaison des structures primaires des récepteurs $\beta 1$, $\beta 2$ et $\beta 3$ révèle l'existence de résidus que l'on peut qualifier de « spécifiques de sous-types » puisque conservés dans les diverses espèces étudiées pour un sous-type de récepteur donné (figure 1). Certains des résidus « spécifiques de $\beta 3$ » localisés, par homologie avec le récepteur $\beta 2$, dans des

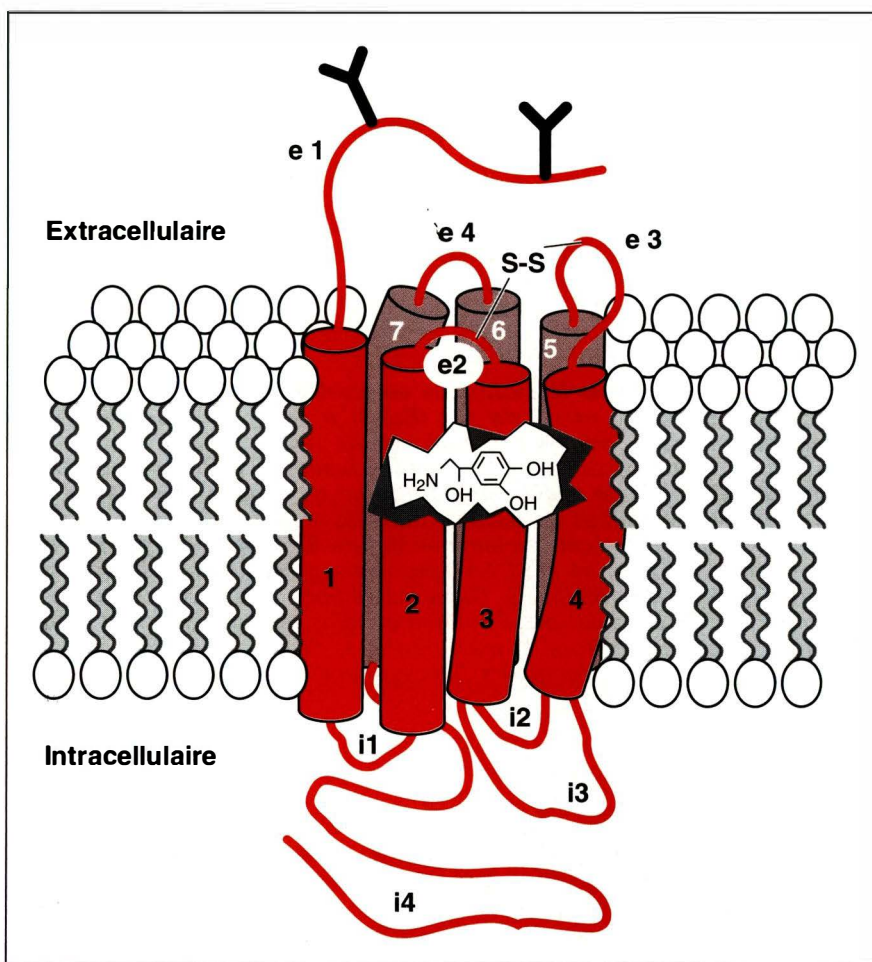


Figure 2. Topologie membranaire des récepteurs β -adrénergiques. La noradrénaline est représentée dans le site de liaison du récepteur. Celui-ci forme une poche membranaire délimitée par les sept domaines hydrophobes en hélice α (cylindres marqués de 1 à 7) traversant la bicouche lipidique. Les régions intra- (i1 à i4) et extracellulaires (e1 à e4) sont indiquées ainsi que le pont disulfure (-S-S-) essentiel à l'activité des récepteurs et qui relie e2 à e3. Les sucres greffés dans la partie N-terminale (e1) sur les sites de N-glycosylation sont indiqués par le signe Y.

régions stratégiques pourraient conférer au récepteur β_3 ses particularités fonctionnelles.

L'étude de récepteurs chimériques β_1/β_2 -adrénergiques, dans lesquels un ou plusieurs domaines transmembranaires étaient échangés d'un sous-type à l'autre, a révélé que chaque ligand β -adrénergique définissait lui-même son site de liaison en interagissant avec divers résidus appartenant à différents domaines du récepteur [25]. Les sites de liaison des différents récepteurs β contiennent probablement toujours les résidus essentiels tels que l'Asp 117 (numérotation du récepteur β_3 humain), les résidus sérine 169, 209

et 212; les phénylalanines 213 et 309 et la tyrosine 336 (figures 1 et 3). On peut cependant concevoir que des résidus spécifiques des récepteurs β_3 trouvés dans les régions transmembranaires ou à proximité (figure 1), interagissent préférentiellement avec certains ligands ou modifient l'accessibilité et la conformation du site de liaison, déterminant ainsi la sélectivité et les propriétés d'agonistes ou d'antagonistes des ligands. Dans ce contexte, l'analyse des modèles moléculaires proposés pour les interactions ligands/récepteurs β -adrénergiques permet déjà de proposer que des ligands encombrants — tels que la

plupart des antagonistes classiques β_1 et β_2 — adoptent dans le site de liaison du récepteur β_3 une conformation différente de celle qu'ils ont dans le site β_2 [23]. Cela explique peut-être la faible affinité de ces composés pour le récepteur β_3 ainsi que les effets agonistes de beaucoup d'entre eux sur ce dernier.

Certaines parties de la troisième boucle intracytoplasmique et de la partie C-terminale sont particulièrement conservées entre les récepteurs β_1 , β_2 et β_3 -adrénergiques, traduisant probablement le couplage de ces trois derniers à la sous-unité α de la protéine Gs. Cependant, on retrouve également dans ces régions des résidus spécifiques des récepteurs β_3 (figure 1). Bien que contenant toujours une sous-unité α stimulatrice, les protéines Gs sont assez hétérogènes puisque quatre gènes sont maintenant connus pour chacune des sous-unités β et γ . Les résidus « spécifiques de sous-type » pourraient donc favoriser le couplage d'un récepteur β -adrénergique donné avec l'une ou l'autre forme de protéine Gs en fonction des sous-unités β et γ qui la composent [26, 27]. Les dimères $\beta\gamma$ étant capables *per se* de moduler l'activité de phospholipases, protéine kinases et canaux ioniques [28-32], chaque sous-type de récepteur β -adrénergique aurait ainsi, outre la propriété de stimuler l'adénylate cyclase, celle de contrôler spécifiquement d'autres effecteurs cellulaires. Une telle spécificité peut donc conférer à un récepteur β -adrénergique la capacité d'agir sur une voie enzymatique particulière, alors que plusieurs sous-types de récepteur sont présents sur une même cellule.

Il faut aussi noter que les récepteurs β_3 ne possèdent pas de site de phosphorylation par la PKA (sérine 262 dans le récepteur β_2) et que leur partie C-terminale est relativement pauvre en résidus sérine et thréonine (figure 1) qui, pour les récepteurs β_2 , sont les cibles de la β ARK. Pour le récepteur β_2 , un peptide correspondant à la partie de la troisième boucle intracytoplasmique qui contient le site PKA peut activer la protéine Gs, mais perd cette capacité et acquiert celle de stimuler Gi lorsqu'il est phosphorylé [33].

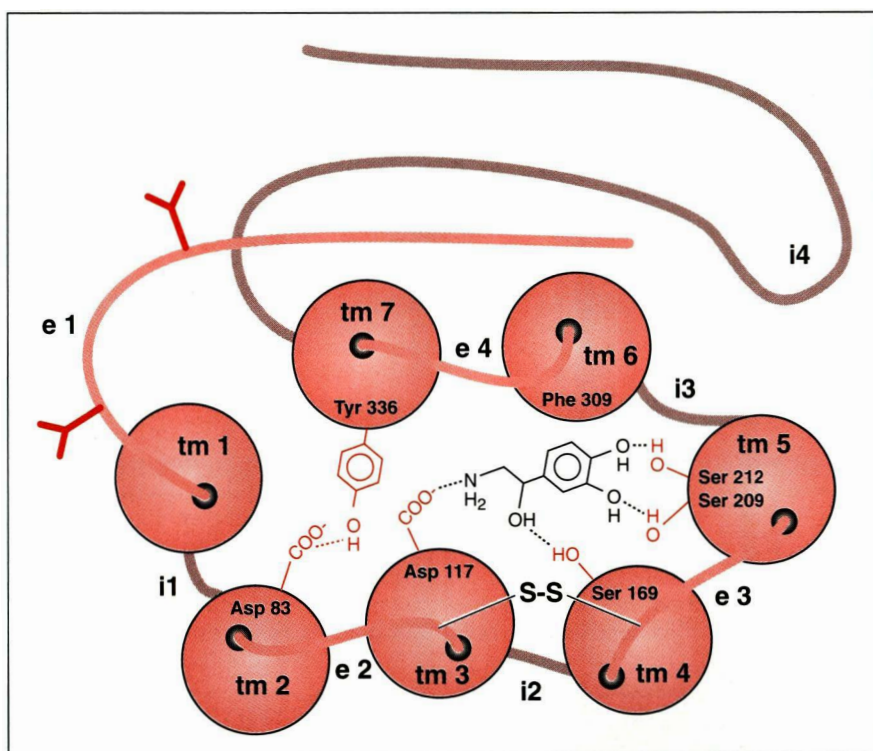


Figure 3. **Schéma de la liaison de la noradrénaline au récepteur β_3 -adrénergique humain (tiré de [22]).** L'hormone interagit avec des résidus des domaines transmembranaires tm3 (liaison électrostatique entre le groupe -COO- de l'Asp 117 et le groupe aminé des catécholamines), tm4 (pont d'hydrogène entre les groupes -OH de la Ser 169 et de la chaîne éthanola mine du ligand), tm5 (ponts d'hydrogène entre les -OH des Ser 209 et Ser 212 et ceux du noyau catéchol), tm6 (Phe 309 dont le noyau aromatique interagit avec le noyau catéchol). Notons que le groupe -OH de la Tyr 336 de tm7 peut former un pont d'hydrogène avec celui de l'Asp 83 de tm2, jouant certainement un rôle crucial dans la transmission du signal de liaison à la protéine Gs.

RÉFÉRENCES

28. Okabe K, Yatani A, Evans T, *et al.* $\beta\gamma$ dimers of G proteins inhibit atrial muscarinic K^+ channels. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 12854-8.
29. Haga K, Haga T. Activation by G protein $\beta\gamma$ subunits of agonist- or light-dependent phosphorylation of muscarinic acetylcholine receptors and rhodopsin. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 2222-7.
30. Boyer JL, Waldo GL, Harden TK. $\beta\gamma$ subunit activation of G-protein-regulated phospholipase C. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 25451-6.
31. Lotersztajn S, Pavoine C, Deterre P, *et al.* Role of G protein $\beta\gamma$ subunits in the regulation of the plasma membrane Ca^{2+} pump. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 2375-9.
32. Federman AD, Conklin BR, Schrader KA, Reed RR, Bourne HR. Hormonal stimulation of adenylyl cyclase through G_i protein $\beta\gamma$ subunits. *Nature* 1992 ; 356 : 159-61.
33. Okamoto T, Murayama Y, Hayashi Y, *et al.* Identification of a Gs activator region of the β_2 -adrenergic receptor that is auto-regulated via protein kinase A-dependent phosphorylation. *Cell* 1991 ; 67 : 723-30.
34. Granneman JG. Effects of agonist exposure on the coupling of β_1 and β_2 adrenergic receptors to adenylyl cyclase in isolated adipocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1992 ; 261 : 638-42.
35. Nantel F, Bonin H, Emorine LJ, *et al.* The human β_3 -adrenergic receptor is resistant to short-term agonist promoted desensitization. *Mol Pharmacol* 1993 ; 43 : 548-55.
36. Fève B, Emorine LJ, Lasnier F, *et al.* Atypical β -adrenergic receptor in 3T3-F442A adipocytes. Pharmacological and molecular relationship with the human β_3 -adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 20329-36.
37. Lönnqvist F, Krief S, Strosberg AD, *et al.* Evidence for a functional β_3 -adrenergic receptor in man. *Br J Pharmacol* 1993 (sous presse).
38. Krief S, Lönnqvist F, Raimbault S, *et al.* Tissue distribution of β_3 -adrenergic receptors mRNA in man. *J Clin Invest* 1993 ; 91 : 344-49.
39. Kaumann AJ. Is there a third heart β -adrenoceptor? *Trends Pharmacol Sci* 1989 ; 10 : 316-20.
40. Wisén O, Johansson C. Gastrointestinal function in obesity: motility, secretion, and absorption following a liquid test meal. *Metabolism* 1992 ; 41 : 390-5.
41. Henny C, Schutz Y, Bückert A, *et al.* Thermogenic effect of the new β -adrenoceptor agonist Ro 16-8714 in healthy male volunteers. *Int J Obesity* 1987 ; 11 : 473-83.
42. Connacher AA, Jung RT, Mitchell PEG. Weight loss in obese subjects on a restricted diet given BRL 26830A, a new atypical β adrenoceptor agonist. *Br Med J* 1988 ; 296 : 1217-20.
43. Chapman BJ, Farquhar DL, Galloway SM, Simpson GK, Munro JF. The effects of a new β -adrenoceptor agonist BRL 26830A in refractory obesity. *Int J Obesity* 1988 ; 12 : 119-23.

L'absence d'un tel site PKA dans le récepteur β_3 peut donc, non seulement diminuer les possibilités de découplage récepteur/protéine Gs, mais aussi empêcher les interactions du récepteur avec la protéine G_i qui sont potentiellement impliquées dans la désensibilisation des réponses β_2 . Des résultats récents [34, 35] confirment que, dans certaines conditions, les réponses β_3 sont peu sensibles à une exposition prolongée aux agonistes β -adrénergiques.

Rôle physiologique du récepteur β_3 -adrénergique

Expression tissulaire

Les propriétés pharmacologiques du récepteur β_3 -adrénergique humain ressemblent fortement à celles du récepteur β -adrénergique atypique des adipocytes de rongeur. La correspondance entre les deux récepteurs est aussi étayée par la présence d'ARN messager β_3 dans les tissus adipeux bruns et blancs de souris [7] et de rat [8, 9] et par l'émergence, lors de la différenciation adipocytaire des fibroblastes murins 3T3-F442A, d'une population majoritaire de récepteurs β_3 -adrénergiques [36].

Chez l'homme, nous avons montré [36] que l'ARN messager du récepteur β_3 -adrénergique est exprimé dans les dépôts adipeux sous-cutanés, omentaux et périrénaux, considérés comme blancs chez l'adulte, et dans le tissu adipeux brun qui n'est bien individualisé que chez l'enfant. Plus le tissu est profond — périrénal contre omental et omental contre sous-cutané —, plus forte est l'expression de l'ARN du récepteur β_3 -adrénergique. Des travaux plus récents [37] ont confirmé la présence dans les adipocytes humains de récepteurs β_3 -adrénergiques intervenant dans la réponse lipolytique aux catécholamines.

Outre le tissu adipeux, l'ARN messager du récepteur β_3 a été détecté dans le côlon et la vésicule biliaire humaine [36] et dans l'iléon de rat [8]. Cela permet donc d'envisager la correspondance entre le récepteur β_3 et les récepteurs atypiques décrits dans le tractus digestif. Alors que la présence, dans les muscles squelet-

tiques et dans le cœur, de récepteurs β -adrénergiques atypiques, a souvent été évoquée [4, 5, 39], l'ARN du récepteur β_3 n'a pu être mis en évidence dans ces tissus. Bien que l'existence d'un sous-type supplémentaire de récepteur β -adrénergique ait été évoquée pour ces organes [4], les arguments en faveur d'une telle hypothèse sont principalement d'ordre physiologique et pourraient refléter des effets β_3 -adrénergiques distaux.

Récepteur β_3 -adrénergique et métabolisme lipidique

Les données accumulées dans les modèles animaux, et qui semblent pouvoir s'étendre à l'homme, démontrent que le récepteur β_3 -adrénergique est impliqué au niveau des tissus adipeux blancs et bruns dans le contrôle par les catécholamines du stockage et de l'utilisation des graisses. Chez les rongeurs, la thermogenèse du tissu adipeux brun est sous contrôle sympathique et peut être induite par l'exposition au froid (*cold-induced thermogenesis*) et aussi lors de la prise alimentaire (*diet-induced thermogenesis*). Ce dernier type de thermogenèse pourrait refléter un mécanisme de contrôle du stockage des graisses consistant à brûler dans les adipocytes les acides gras assimilés en excès pendant la digestion. La présence de récepteurs β_3 -adrénergiques dans la vésicule biliaire et dans le tractus digestif suggère qu'un niveau de contrôle supplémentaire puisse opérer aux étapes initiales de la constitution des réserves lipidiques, pour diminuer l'assimilation des graisses au moment de la digestion. Cette hypothèse est particulièrement attrayante si l'on considère la fréquence élevée de maladies de la vésicule (lithiases, hypomobilité) chez les sujets obèses. En outre, de récentes études comparatives ont montré qu'après un repas riche en graisses, l'absorption jéjunale des lipides est plus rapide et plus efficace chez les obèses que chez les sujets minces [40].

L'ensemble de ces observations permet d'envisager que le récepteur β_3 -adrénergique puisse participer au contrôle de la balance énergétique en agissant sur l'assimilation intesti-

nale des graisses et sur leur stockage, leur mobilisation et leur dissipation par le tissu adipeux. Les effecteurs d'un tel contrôle pourraient être des acides gras libres ou leurs produits métaboliques (cétones, acides gras volatils), agissant localement ou par l'intermédiaire du système nerveux sympathique sur l'activité et/ou l'expression du récepteur $\beta 3$. Une assimilation non contrôlée des graisses, due à la défaillance d'une des étapes de ce contrôle, pourrait induire en retour une dysrégulation du système insulinaire, favorisant l'installation d'une obésité souvent associée à un diabète de type II.

Perspectives

Le traitement chronique de rats ou de souris obèses et diabétiques par des agonistes $\beta 3$ -adrénergiques de la classe des phénéthanolamines (BRL 37344, LY 79771 et ICI 201 651) induit une perte pondérale et restaure une certaine sensibilité à l'insuline. Quelques-uns de ces produits expérimentés chez l'homme n'ont pas une action aussi marquée [41-43] et produisent certains effets secondaires, probablement en interagissant avec des récepteurs $\beta 1$ et $\beta 2$ -adrénergiques. Nous avons effectivement montré que le BRL 37344, testé sur des cellules CHO exprimant les récepteurs correspondants, est moins efficace sur le récepteur $\beta 3$ humain que sur celui de souris [7], et que, pour les récepteurs humains, il est peu sélectif du sous-type $\beta 3$ par rapport aux sous-types $\beta 1$ et $\beta 2$ [16]. L'absence, ou la faible activité, chez l'homme adulte de tissu adipeux brun qui, chez l'animal, semble être l'un des sites privilégiés de la combustion des excédents lipidiques pourrait aussi expliquer la faible efficacité de ces produits.

De nouveaux agents pharmacologiques plus sélectifs du récepteur $\beta 3$ -adrénergique pourront être développés grâce aux modèles de la structure tridimensionnelle des récepteurs adrénergiques [21-24]. Leurs propriétés pharmacologiques et leur sélectivité seront facilement analysées dans les cellules CHO $\beta 1$, CHO $\beta 2$ et CHO $\beta 3$. Des composés

sélectifs, agissant sur les récepteurs $\beta 3$ -adrénergiques du tissu adipeux mais aussi du tractus digestif aideront peut-être dans le traitement ou la prévention de certaines formes d'obésité et de diabète ■

Remerciements

Nous remercions tous nos collègues qui, depuis plusieurs années, ont participé à ce travail. En particulier, nous tenons à mentionner les collaborations avec les Dr J. Pairault et B. Fève (INSERM U.282, Hôpital Henri Mondor, Créteil), P. Arner et F. Lönnqvist (Karolinska Institut, Huddinge, Suède) et D. Ricquier et F. Bouillaud (CNRS UPR 1511, Meudon-Bellevue). Le financement de nos recherches provient du Centre National de la Recherche Scientifique, de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, de l'Université Paris VII et du Ministère de la Recherche et de l'Espace. Nous recevons également le support de la compagnie Bristol-Myers-Squibb (Princeton, USA), de la Ligue Nationale contre le Cancer, de la Fondation pour la Recherche Médicale Française et de l'Association pour la Recherche contre le Cancer.

Summary

Structure and function of the $\beta 3$ -adrenergic receptor

Long-term treatment of obese animals with lipolytic selective agents induces weight loss and restores insulin sensitivity. Such effects appear to be mediated by a novel catecholamine receptor — the $\beta 3$ -adrenergic receptor — which has recently been characterized in adipose tissues and in the digestive tract. Although the above compounds are much less efficient in man than in rodents, modelling of the three dimensional structure of the β -adrenergic receptors may allow to design new drugs more active and selective for this receptor subtype. By their actions on adipose tissues and intestinal $\beta 3$ -adrenergic receptors, these drugs may help treating some forms of obesity and diabetes, or preventing their development.

• COLLÈGE DE FRANCE •

11, place Marcelin-Berthelot, 75005 Paris

CHAIRE D'EMBRYOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

Mme Nicole Le Douarin, Membre de l'Institut, Professeur. Séminaires - Année 1994

Développement et évolution des différentes formations squelettiques des vertébrés

Séminaires : les mercredis de 13 h 45 à 15 h 45, salle 1

19 janvier 1994, 13 h 45-15 h 45 : Pr. de RICQLES (Université Paris VII)

Origine et évolution du squelette des vertébrés : apports récents de la paléontologie et de la biologie comparée.

26 janvier 1994, 13 h 45 : Dr. Moya Meredith SMITH (Guy's and St. Thomas's Hospital, London)

The role of neural crest in a developmental model for evolution of the early vertebrate dermal skeleton

26 janvier 1994, 14 h 45 : Anne-Hélène MONSORO-BURQ (Institut d'Embryologie Cellulaire et Moléculaire, Nogent-sur-Marne)

Rôle des gènes de la famille Mx dans le développement de certaines structures squelettiques des vertébrés

2 février 1994, 13 h 45 : Pr. Peter THOROGOOD (Institute of Child Health, London)

Building a skull : a problem in phylogeny and ontogeny

2 février 1994, 14 h 45 : Dr. Olivier POURQUIE (Institut d'Embryologie Cellulaire et Moléculaire, Nogent-sur-Marne)

Rôle des organes axiaux dans la formation de la colonne vertébrale.

L'Administrateur du Collège de France
André Miquel

PREMIÈRE RENCONTRE DU DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET STRUCTURALE DE GRENOBLE

SIGNALISATION CELLULAIRE : DE LA MEMBRANE AU NOYAU

VILLARD-DE-LANS (France)

26-28 janvier 1994

Comité d'organisation

E.M. Chambaz – C. Cochet
J.J. Feige – G. Marguerie

Informations

Pr. E.M. Chambaz, Unité INSERM 244
DBMS/BRCE - Centre d'Études Nucléaires de Grenoble.
BP 85 X - 38041 Grenoble Cedex, France.
Tél. (33) 76.88.47.99 - Fax (33) 76.88.50.58