

# L'isoforme $\beta$ du récepteur des glucocorticoïdes : un facteur de résistance aux glucocorticoïdes ?

Les glucocorticoïdes (cortisol, corticostérone) sont des hormones lipidiques synthétisées par le cortex surrénalien. Ils agissent, aussi bien à l'état basal que lors d'une exposition au *stress*, sur de nombreuses fonctions de l'organisme (régulations métaboliques, systèmes cardiovasculaire, immunitaire, rénal, endocrinien) et participent au maintien de l'homéostasie [1]. L'action des glucocorticoïdes dépend : (1) des concentrations plasmatiques de leur

forme libre (une fraction importante est en effet liée, et inactivée, par la transcortine [1]) ; (2) de son métabolisme intracellulaire : l'isoforme I de la 11 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase dont l'activité oxoréductase prédominante convertit la cortisone (inactive) en cortisol alors que la forme II convertit cortisol en cortisone [2] et ; (3) des caractéristiques de ses récepteurs. Mise à part une action membranaire, encore mal documentée [3], les glucocorticoïdes

agissent principalement au niveau génomique par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique. Le récepteur des glucocorticoïdes humain (RGh), qui fait partie de la superfamille des récepteurs nucléaires, est codé par un seul gène situé sur le chromosome 5. Ce gène est formé de 10 exons, et seul l'exon 1 n'est pas transcrit. La transcription du gène du RGh donne naissance, par épissage alternatif, à trois isoformes d'ARNm (figure 1) : une isoforme d'environ 7 kb

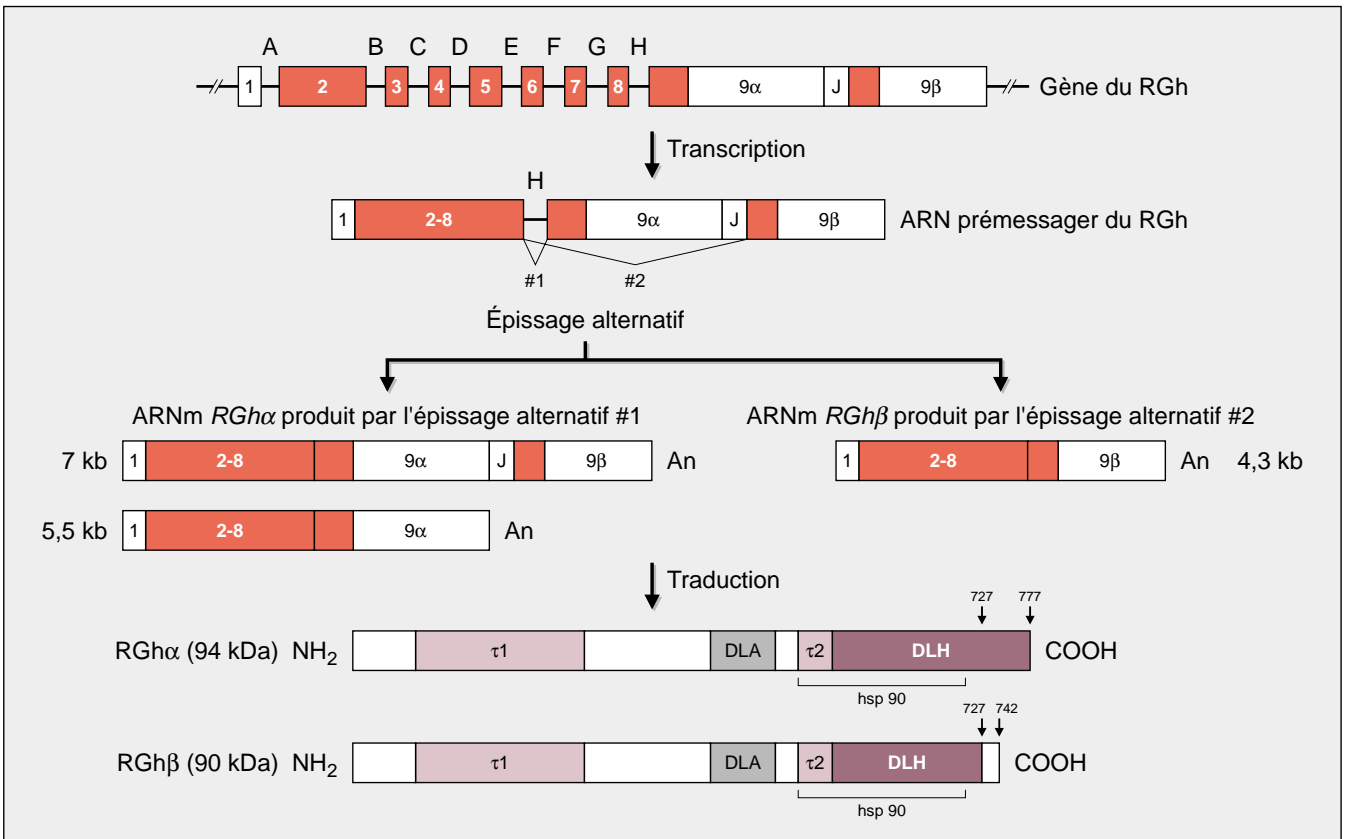


Figure 1. **Structure du gène du RGh, des différents ARNm produits par épissage alternatif et des isoformes RGh $\alpha$  et RGh $\beta$ .** Les exons sont représentés par des rectangles et les introns par des lignes. Les portions codantes sont colorées en rouge. L'épissage des introns A-G n'est pas figuré.  $\tau_1$ ,  $\tau_2$ : domaines de transactivation ; DLA: domaine de liaison à l'ADN ; DLH: domaine de liaison à l'hormone. (Schéma établi d'après Oakley et al. [4].)

qui est constituée de l'ensemble des exons et de l'intron J, une isoforme d'environ 5,5 kb qui est constituée des 8 premiers exons et de l'exon 9 $\alpha$  et une isoforme d'environ 4,3 kb qui est constituée des 8 premiers exons et de l'exon 9 $\beta$ . La traduction de ces différents ARNm engendre deux isoformes du RGh : les ARNm 7 kb et 5,5 kb engendrent l'isoforme  $\alpha$  (RGh $\alpha$ , de 94 kDa), l'ARNm 4,3 kb l'isoforme  $\beta$  (RGh $\beta$ , de 90 kDa) [4]. L'isoforme  $\beta$  diffère de l'isoforme  $\alpha$  dans le domaine de liaison des glucocorticoïdes par une séquence spécifique de 15 acides aminés (acides aminés 727-742), qui remplacent les 50 derniers acides aminés [5], cela la rend incapable de lier les glucocorticoïdes et, par voie de conséquence, en fait une forme inactive.

Le RGh $\beta$  et son ARNm ont été mis en évidence dans de nombreux tissus d'adultes ou de fœtus humains (cœur, pancréas, foie, cerveau [cortex, amygdale, hippocampe, hypothalamus], placenta, rein, muscle strié, hypophyse [normale ou tumorale], moelle osseuse, thymus, rate, graisse abdominale) ou dans des lignées cellulaires d'origine humaine (HeLa S-3, CEM-C7), à des concentrations égales ou inférieures à celles du RGh $\alpha$  ou de ses ARNm [4, 7-9]. Des expériences de transfection de plasmides contenant le gène codant pour l'ARNm du RGh $\beta$  dans la lignée cellulaire COS, ont montré, ainsi que les modifications de structure le laissaient supposer, que le RGh $\beta$  est incapable de lier aussi bien un agoniste synthétique (la dexaméthasone) qu'un antagoniste synthétique (le RU 38486) des glucocorticoïdes [4, 7]. L'expression de RGh $\beta$  ne modifie pas les caractéristiques de liaison de RGh $\alpha$  [7]. À l'état basal, la transfection par un plasmide contenant le gène codant pour l'ARNm du RGh $\beta$  est sans effet sur l'activité d'un gène rapporteur réglé par les glucocorticoïdes. Cependant, lorsque les deux isoformes du RGh sont exprimées dans la même cellule, la présence de RGh $\beta$  inhibe l'augmentation de transcription du gène rapporteur induite, *via* RGh $\alpha$ , par les glucocorticoïdes, suggérant que RGh $\beta$  est un inhibiteur endogène de l'action des glucocorticoïdes [4, 7].

Cependant, la spécificité de l'action inhibitrice de RGh $\beta$  a été récemment remise en question [6]. La nécessité, pour obtenir un effet inhibiteur, de transférer des quantités plus importantes de plasmide codant pour le RGh $\beta$  que de plasmide codant pour le RGh $\alpha$  [7] n'est pas en faveur d'une action significative du RGh $\beta$ . Il est toutefois difficile de transposer des données quantitatives d'un modèle de transfection *in vitro* à des régulations physiologiques *in vivo*.

Le mode d'action du RGh $\beta$  n'est pas encore élucidé. Trois mécanismes sont envisagés : (1) le RGh $\beta$  pourrait former un hétérodimère avec le RGh $\alpha$ , incapable de s'associer à l'ADN, d'une manière comparable à celle d'inhibiteurs de l'action des glucocorticoïdes tels que c-Jun ou NF- $\kappa$ B [1]; (2) le RGh $\beta$  pourrait lier des protéines accessoires ou des coactivateurs du RGh $\alpha$  et ainsi inhiber leur action; (3) le RGh $\beta$  pourrait former, soit un homodimère, soit un hétérodimère avec le RGh $\alpha$ , capable de fixer les éléments de réponse aux glucocorticoïdes mais possédant une activité transcriptionnelle nulle ou réduite.

Bien que la régulation *in vivo* de l'expression du RGh $\beta$  soit encore mal connue, sa localisation quasi ubiquitaire suggère un rôle fonctionnel. Une augmentation de l'expression du RGh $\beta$  pourrait expliquer les phénomènes de résistance aux glucocorticoïdes observés dans certaines maladies. Chez des sujets ayant un asthme sévère, insensible aux glucocorticoïdes, l'expression lymphocytaire du RGh $\beta$  est augmentée. Il en résulte une diminution de la liaison des récepteurs des glucocorticoïdes à l'ADN. Ce phénomène, qui peut être reproduit expérimentalement après surexpression du RGh $\beta$ , est consécutif à une diminution de l'affinité de liaison des récepteurs des glucocorticoïdes à l'ADN. L'augmentation de la synthèse du RGh $\beta$  semble dépendre de cytokines puisque, *in vitro*, le pourcentage de lymphocytes prélevés chez des patients asthmatiques résistants aux glucocorticoïdes et contenant le RGh $\beta$  est normalisé en l'absence de cytokines et reste augmenté en présence d'interleu-

kine-2 (IL-2) et d'IL-4. De manière comparable, le pourcentage de lymphocytes prélevés chez des patients témoins et contenant le RGh $\beta$  est significativement augmenté après 48 h de culture en présence d'IL-2 et d'IL-4 [10]. Bien que les mécanismes par lesquels IL-2 et IL-4 stimulent l'expression de RGh $\beta$  ne soient pas élucidés, ces observations suggèrent que les interleukines pourraient, par un mécanisme de rétrocontrôle, moduler la sensibilité tissulaire aux glucocorticoïdes *via* une action sur RGh $\beta$  et réduire ainsi l'action des glucocorticoïdes. Un mécanisme similaire pourrait exister dans certains cas d'arthrite rhumatoïde, d'ostéoarthritis dégénérative, ou lors de l'infection par le virus du SIDA [11]. De manière comparable, une diminution de la synthèse du RGh $\beta$  pourrait rendre compte des syndromes généralisés ou localisés d'hypersensibilité aux glucocorticoïdes. L'obésité centrale (ou viscérale), qui s'accompagne de complications métaboliques et cardiovasculaires importantes, pourrait entrer dans ce cadre. En effet, si l'on considère la distribution de la masse grasse, cette affection s'apparente au syndrome de Cushing, avec toutefois des concentrations normales de cortisol circulant [12], suggérant l'existence d'une hypersensibilité aux glucocorticoïdes de la graisse viscérale, qui peut être liée à une altération du rapport des isoformes des récepteurs des glucocorticoïdes.

S.B.  
J.G.V.  
C.O.  
M.G.

1. Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocrinol Rev* 1996; 17: 245-61.
2. Penning TM. Molecular endocrinology of hydroxysteroid deshydrogenases. *Endocrinol Rev* 1997; 18: 281-305.
3. Wehling M. Nongenomic action of steroid hormones. *Trends Endocrinol Metab* 1994; 5: 347-53.
4. Oakley RH, Sar M, Cidlowski JA. The human glucocorticoid receptor  $\beta$  isoform. *J Biol Chem* 1996; 271: 9550-9.
5. Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, Cerelli GC, Oro A, Lebo R, Thompson EB, Rosenfeld MG, Evans RM. Primary structure and expression

of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature* 1985; 318: 635-41.

6. Hecht K, Carlsted-Duke J, Stierna P, Gustafsson J-A, Brönnegård M, Wilkström A-N. Evidence that the  $\beta$ -isoform of the human glucocorticoid receptor does not act as a physiological significant repressor. *J Biol Chem* 1997; 272: 26659-64.

7. Bamberger CM, Bamberger A-M, de Castro M, Chrousos GP. Glucocorticoid receptor  $\beta$ , a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. *J Clin Invest* 1995; 95: 2435-41.

8. Oakley RH, Webster JC, Sar M, Parker Jr CR, Cidlowski JA. Expression and subcellular distribution of the  $\beta$ -isoform of the human glucocorticoid receptor. *Endocrinology* 1997; 138: 5028-38.

9. de Castro M, Elliot S, Kino, T, Bamberger C, Karl M, Webster M, Chrousos GP. The non-ligand binding  $\beta$ -isoform of the human glucocorticoid receptor (hGR $\beta$ ): tissue levels, mechanism of action, and potential physiologic role. *Mol Med* 1996; 2: 597-607.

10. Leung DYM, Hamid Q, Vottero A, Szeffler SJ, Surs W, Minshall E, Chrousos GP, Klemm DJ. Association of glucocorticoid insensitivity with increased expression of glucocorticoid receptor  $\beta$ . *J Exp Med* 1997; 186: 1567-74.

11. Chrousos GP, Detera-Waldleigh SD, Karl M. Syndromes of glucocorticoid resistance. *Ann Intern Med* 1993; 119: 1113-24.

12. Bouchard C, Desprès JP, Mauriège P. Genetic and nongenetic determinants of regional fat distribution. *Endocrinol Rev* 1993; 14: 72-93.

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Notch, acteur important de la régulation de la différenciation hématopoïétique.** L'activation du récepteur Notch (et de ses homologues) dans les précurseurs lymphocytaires T et les lignées granulocytaires murines altère leur comportement et, dans ce dernier modèle, inhibe la différenciation [1], rappelant ainsi la fonction principes de Notch au cours de l'embryogenèse. Trois observations récentes confirment l'importance de cette voie de régulation de l'hématopoïèse mais en soulignant la complexité. L'activation des différents récepteurs Notch dépendrait de la cytokine utilisée pour stimuler la différenciation cellulaire. Dans le modèle de la lignée granulocytaires 32D qu'utilisent les auteurs, l'insertion d'un ADNc codant pour une forme activée (tronquée) de Notch 1 bloque sélectivement la différenciation induite par le G-CSF alors que l'expression de Notch 2 activée bloque l'action du GM-CSF. L'utilisation de constructions hybrides associant différentes régions fonctionnelles des ADNc de *Notch 1* et *Notch 2*, a permis aux auteurs de

localiser la région qui confère la spécificité de réponse aux cytokines. Celle-ci est distincte des régions communes requises pour l'activité de toutes les molécules Notch mais aussi de la région codant pour le signal de localisation nucléaire [2]. Cette voie de régulation pourrait être physiologique [3]. Lorsque les cellules 32D, exprimant la forme non activée de *Notch 1*, sont cultivées en présence d'un des ligands physiologiques de Notch1, la protéine jagged, la différenciation induite par le G-CSF est inhibée, comme elle l'était après surexpression de la forme activée de Notch1, en l'absence de ligand. Dans cette étude un ADNc codant pour l'équivalent humain de r-jagged 1 (identifié initialement chez le rat) a été isolé à partir de cellules stromales de moelle osseuse humaine. L'inhibition de la différenciation des cellules 32D en réponse au G-CSF peut être induite, soit par co-culture avec les cellules stromales humaines exprimant *jagged 1*, soit par une forme soluble de la partie extracellulaire de la protéine h-jagged et, à un moindre degré, par des peptides

correspondant à ces régions. Enfin, un troisième article [4] analyse les mécanismes d'inhibition par Notch 1 et Notch 2 de l'activité de E47, protéine bHLH (basique hélice-boucle-hélice) qui, par sa fonction de liaison à l'ADN après dimérisation, est essentielle au processus de différenciation lymphocytaire B. Il semble que l'inhibition de E47 par Notch ne passe pas par la voie de signalisation classique de Notch, impliquant l'activation de CBF1 (*core binding factor*) et la transcription des gènes *HES (Hairy and Enhancer of Split)*. L'inhibition de l'activité de E47 résulterait d'une inhibition de la voie de signalisation dépendant de Ras par Notch, associé ou non à Deltex, protéine cytoplasmique qui se lie à Notch et module son activité.

[1. Milner LA, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 13014-9.]

[2. Bigas A, et al. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 2324-33.]

[3. Li L, et al. *Immunity* 1998; 8: 43-55.]

[4. Ordentlich P, et al. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 2230-9.]



**IMGT  
NEWS**

### Séquences protéiques - Représentations 3D - Analyse de séquences

IMGT, the international ImMunoGeneTics DataBase, annonce : • la **présentation des séquences protéiques** des régions variables des immunoglobulines et récepteurs T humains en accord avec la description des mutations et les alignements d'allèles (IMGT NEWS - Août 1997), • **les premières représentations 3D** des régions variables d'anticorps et de récepteurs T, basées sur la numérotation unique IMGT définie par Marie-Paule Lefranc (IMGT NEWS - Mars 1997), • **IMGT/DNAPLOT** pour l'analyse des séquences réarrangées des immunoglobulines et récepteurs T humains et pour l'identification des sous-groupes des séquences IGHV de souris. Toutes ces informations sont accessibles à IMGT : <http://imgt.cnusc.fr:8104>

**Flash sur IMGT** > 24 000 séquences d'Ig e de TcR de 81 espèces, > 17 000 sites connectés depuis le 1<sup>er</sup> janvier 96, > 2 500 requêtes par semaine

**Initiateur et coordinateur de IMGT** : Pr Marie-Paule Lefranc, Laboratoire d'ImmunoGénétique Moléculaire, LIGM, UMR 5535 (CNRS - Université Montpellier II), 1919, route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5 - France - Tél. : +33 (0)4 67 61 36 34 - Fax : +33 (0)4 67 04 02 31 - lefranc@ligm.crbm.cnrs-mop.fr

**Référence IMGT** : Lefranc M.-P., Immunology Today, 18, 509 (1997), Lefranc M.-P. et al., Nucleic Acids Research, 26, 297-303 (1998)