

Les acides biliaires modulent l'expression génique

Chez l'homme, les acides biliaires sont des stéroïdes à 24 atomes de carbone dérivés du cholestérol. La réduction en *cis* de la double liaison en C5-C6 du cholestérol confère à ces molécules une structure incurvée, substratum de leurs propriétés amphiphiles*. Cette amphiphilie peut être majorée par l'ajout d'un ou plusieurs radicaux hydroxyles en position 7 et/ou 12 sur le noyau stérane ainsi que par l'amidification de la fonction carboxylique terminale par conjugaison à la taurine ou à la glycine. Le foie synthétise deux acides biliaires primaires, l'acide cholique (AC) (3 α , 7 α , 12 α trihydroxy, 5 β cholanique) et l'acide chénodésoxycholique (ACDC) (3 α , 7 α dihydroxy, 5 β cholanique). Les acides biliaires primaires glyco- ou tauro-conjugués sont excrétés au pôle canaliculaire par un transporteur actif de la famille des P-glycoprotéines [1]. Dans la lumière intestinale, les acides biliaires primaires sont en partie déconjugués et déshydroxylés en position 7 par la flore bactérienne. L'acide taurodésoxycholique (TDC) formé à partir de l'acide taurocholique (TC) est réabsorbé quasi totalement dans l'iléon par un transporteur actif dépendant du sodium [2]. L'ACDC est principalement transformé en acide lithocholique (LC) majoritairement éliminé dans les fèces et, pour une très faible partie chez l'homme, épimérisé en acide ursodésoxycholique (AUDC) (3 α , 7 β trihydroxy, 5 β -cholanique). Au sein de l'entérocyte, les acides biliaires se lient à une protéine cytosolique (IBAP) (*intestinal bile acid-binding protein*) [3] et sont dirigés vers le pôle basal où ils diffusent passivement puis retournent vers le foie par le système vasculaire porte. L'hépatocyte capte très efficacement les acides biliaires conjugués (90 % lors du premier passage) grâce à un transporteur actif

dépendant du sodium (NTCP) (*Na-taurocholate cotransporting polypeptide*) [4], et plus accessoirement les acides biliaires non conjugués par un système de transport d'anions indépendant du sodium (OATP) (*organic-anion-transporting polypeptide*) [5]. Le cycle entérohépatique des acides biliaires est un processus très efficace permettant, grâce à 5 à 10 recirculations quotidiennes, d'obtenir une concentration intraluminaire optimale d'acides biliaires nécessaires à l'absorption des lipides au prix d'une synthèse quotidienne minimale et égale aux pertes fécales (environ 600 mg/24 h). Cet état d'équilibre permet de maintenir stable la quantité (2 à 4 g) totale d'acides biliaires dans l'organisme [6].

Les acides biliaires hydrophobes règlent négativement leur voie de synthèse

La synthèse d'acides biliaires, à partir du cholestérol, est une voie métabolique particulièrement importante permettant d'éliminer environ 50 % de la quantité de cholestérol ingérée quotidiennement. Il s'agit d'un processus complexe comportant 14 réactions enzymatiques ayant lieu dans trois compartiments cellulaires différents. Très schématiquement, les modifications peuvent se résumer à des modifications sur le noyau stérane et à un clivage oxydatif des trois derniers carbones de la chaîne latérale. L'étape initiale, également limitante, est catalysée par la cholestérol 7 α hydroxylase microsomale. Le dogme d'une voie unique de synthèse a prévalu jusqu'à la découverte d'une seconde voie, dite mitochondriale, mise en route par la cholestérol 27 hydroxylase mitochondriale [7]. Ces deux voies métaboliques, dont l'importance relative est encore controversée chez l'homme, conduisent respectivement à une synthèse préférentielle d'AC ou d'ACDC.

Depuis le début des années 1960, de nombreux travaux expérimentaux ont montré que la déplétion en acides biliaires, provoquée par la création d'une fistule biliaire ou par l'utilisation de chélateurs d'acides biliaires, stimulait la synthèse endogène de ces composés [8]. Inversement, la capacité des acides biliaires de régler négativement chacune de ces deux activités enzymatiques, cholestérol 7 α hydroxylase et cholestérol 27 hydroxylase [9, 10], est proportionnelle à leur index d'hydrophobicité, avec par ordre d'efficacité décroissante ADC > ACDC > AC, un acide biliaire hydrophile comme l'AUDC étant dénué d'effet. Le clonage de l'ADN complémentaire codant pour la cholestérol 7 α hydroxylase (CYP7A) [11] et la cholestérol 27 hydroxylase (CYP27) [12] a permis de montrer que l'effet inhibiteur des acides biliaires hydrophobes s'exerce principalement au niveau transcriptionnel comme pour le cholestérol [13], les glucocorticoïdes ou le glucagon [14].

Mécanisme moléculaire de l'effet transrépresseur des acides biliaires: le modèle du gène de la CYP7A

Le niveau de transcription du gène *CYP7A* est réglé par de nombreux effecteurs, hormonaux ou non: cholestérol, glucocorticoïdes, hormones thyroïdiennes, glucagon, insuline, cycle nyctéméral. La répression de la transcription de ce gène est principalement sous le contrôle des acides biliaires hydrophobes. Le promoteur du gène codant pour la *CYP7A* est un exemple typique de promoteur liant l'ARN polymérase II en aval d'une boîte TATA et contenant différents éléments d'activation en *cis* reconnus par différents facteurs transcriptionnels tels que DBP (*D-site binding protein*), C/EBP (*CCAAT enhancer binding protein*), HNF4 (*hepatocyte nuclear factor*), COUP-TFII (*chicken ovalbumin*

* Molécules possédant une partie hydrophile et une partie hydrophobe.

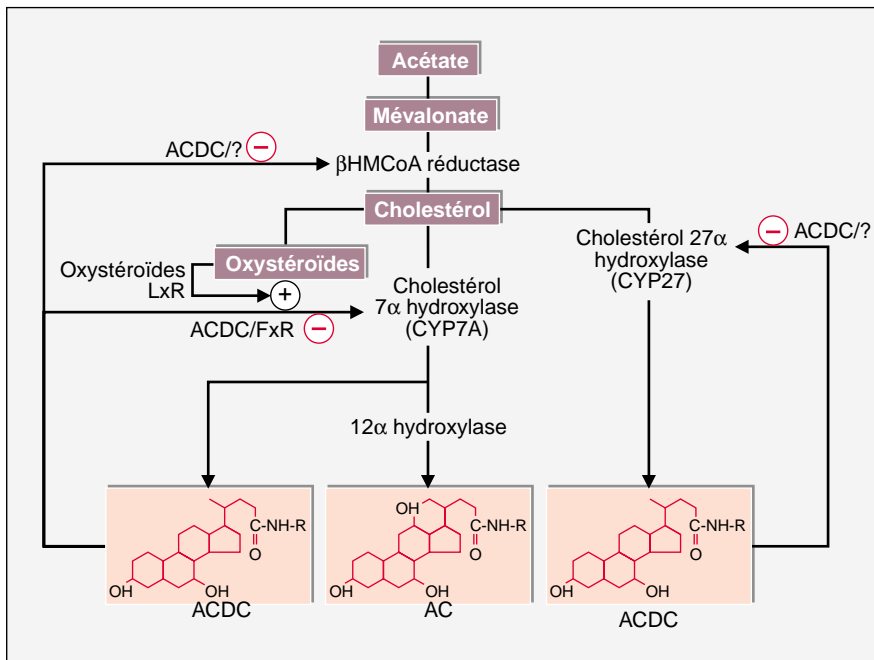


Figure 1. **Synthèse endogène des acides biliaires.** Les deux principales voies de synthèse des acides biliaires sont représentées. La voie «classique» impliquant la cholestérol 7 α -hydroxylase conduit à une synthèse d'AC et d'ACDC; la seconde dite mitochondriale via la cholestérol 27-hydroxylase conduit à une synthèse préférentielle d'ACDC. L'ACDC règle négativement différentes étapes de sa propre voie de synthèse, principalement au niveau transcriptionnel. L'étape de la cholestérol 7 α -hydroxylase est de loin la mieux connue, celle-ci est finement modulée par les effets antagonistes de l'ACDC et des oxystéroïdes. AC: acide cholique; ACDC: acide chénodésoxycholique; LxR: liver X receptor; FxR: farnesoid X receptor).

upstream transcription factor), le récepteur de l'acide rétinolique (RXR) et les récepteurs hormonaux. La technique du *footprint** a permis d'identifier deux régions suffisantes pour transposer l'effet transrépresseur de l'ACDC et de l'ADC sur un promoteur hétérologue [15, 16]. Ces régions dénommées BARE-I (*bile acid response element*) (-74 à -55) et BARE-II (-149 à -128) ont en commun une courte séquence TCAAGTTCAAGT très conservée, pour laquelle une protéine de liaison dénommée DRBP (*direct repeat binding protein*) a été identifiée par *gel shift*** à partir d'extraits nucléaires de foie humain et de cellules d'hépatocarcinome humain (HepG2). L'existence, d'une part,

* Technique permettant de mettre en évidence des protéines capables d'interagir avec une séquence nucléotidique.

** Technique permettant d'évaluer l'affinité entre un facteur transcriptionnel et une séquence d'ADN utilisée comme sonde.

d'une homologie partielle entre les motifs HRE (*hormone response element*) et TCAAGTTCAAGT [15], et d'autre part la proximité immédiate de ces séquences sur le promoteur, étaye l'hypothèse selon laquelle l'effet des acides biliaires serait relayé par un membre de la superfamille des récepteurs nucléaires. Cette hypothèse a été récemment confirmée par l'identification du récepteur nucléaire d'acide biliaire ou FXR (*farnesoid X receptor*) [17, 18], un membre de la famille des récepteurs orphelins [19]. Pour ce type de récepteur nucléaire, contrairement aux récepteurs hormonaux «classiques», la liaison à l'ADN ne se fait pas par homodimérisation du récepteur, mais par la formation d'un hétérodimère avec le récepteur RXR (*retinoid X receptor*). Les acides biliaires constituent, avec les oxystéroïdes, la deuxième catégorie de molécules provenant du catabolisme du cholestérol, capables de modifier

l'expression de leurs gènes cibles par ce type de récepteurs. En effet, les oxystéroïdes (principalement les molécules contenant le groupement 3 β hydroxyl du cholestérol plus un hydroxyl sur la chaîne latérale) activent la transcription *via* une interaction avec le récepteur LXR (*liver X receptor*) [20]. Les acides biliaires et les oxystéroïdes s'individualisent également des autres hormones par les constantes d'affinité (Kd) avec le récepteur, de l'ordre du micromolaire, ce qui souligne la réalité physiologique de cette interaction, les concentrations d'acides biliaires dans le sang portal en période postprandiale étant comprises entre 10 et 50 μ M. De manière tout à fait surprenante, FXR est capable d'antagoniser la transactivation par LXR [21], permettant de spéculer sur l'existence d'une régulation très fine de la transcription du gène *CYP7A*. En outre, compte tenu de la distribution de l'expression tissulaire de ces facteurs, il semble fort probable qu'un tel mécanisme puisse régler l'expression des protéines de captage et de transport d'acides biliaires dans l'intestin et le rein. La régulation de la transcription du gène *CYP7A*, par les membres de la famille des récepteurs orphelins, n'est pas le seul niveau de régulation possible. En effet, une troisième région de régulation négative (située en aval de -344) modulable par les esters de phorbol, l'AMPc et l'insuline [22] est également impliquée dans la régulation négative par les acides biliaires, et ce malgré l'absence du motif commun à BARE-I et BARE-II [16]. En outre, l'acide rétinolique et le PMA exercent des effets opposés sur la transcription du gène *CYP7A* par l'intermédiaire d'un motif DR-1 like présent au sein de la région BARE-II [23]. L'effet activateur de l'acide rétinolique sur le promoteur *CYP7A* étant antagonisé par le PMA ou la co-transfection de *c-Fos* et *c-Jun*. L'hypothèse avancée serait alors une inhibition de transcription résultant de l'activation par phosphorylation d'un facteur de régulation négative. Les acides biliaires hydrophobes, comme les esters de phorbol (PMA), activent la PKC *via* une interaction commune sur le domaine régulateur de l'enzyme [24]. Dans l'hépatocyte

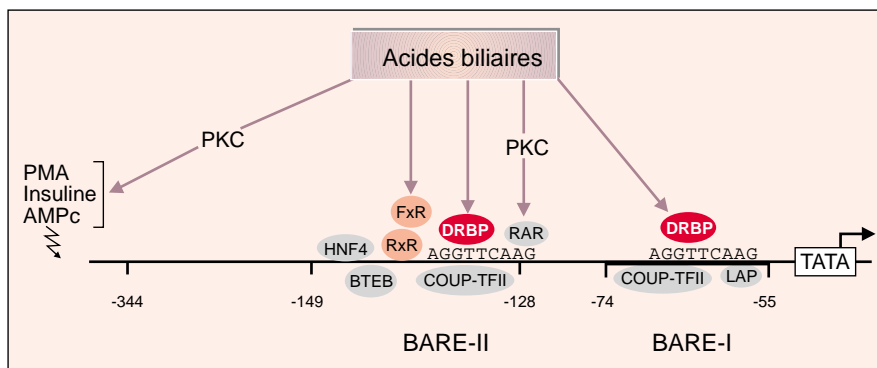


Figure 2. Régulation du promoteur CYP7A par les acides biliaires hydrophobes.

de rat, l'effet inhibiteur du taurocholate et du PMA sur la transcription du gène CYP7A est dépendant de l'activation des isoformes de la PKC (protéine-kinase C) indépendantes du calcium [25].

Modulation d'expression génique par les acides biliaires : implications physiopathologiques

Le gène CYP7A n'est pas le seul exemple connu de modifications

d'expression génique par les acides biliaires. Le Tableau I illustre différents autres exemples de gènes dont l'expression est modulée par les acides biliaires. Cela montre à l'évidence que les conséquences physiopathologiques dépassent largement la régulation de la synthèse et du transport de ces molécules. Ces données soulignent également l'importance du chemin restant à parcourir pour parfaire notre connaissance des mécanismes moléculaires en cause. A cet égard, l'exemple du pro-

moteur de la CYP7A illustre parfaitement l'existence de plusieurs niveaux de régulation possibles. A terme, la progression des connaissances concernant les effets biologiques des acides biliaires et les mécanismes d'action pourrait avoir des conséquences thérapeutiques importantes dans des domaines aussi divers que l'inflammation, l'immunomodulation et la carcinogénèse ■

RÉFÉRENCES

- Gerloff T, Stieger B, Hagenbuch B, *et al.* The sister of P-glycoprotein represents the canalicular bile salt export pump of mammalian liver. *J Biol Chem* 1998; 273: 10046-50.
- Shneider BL, Dawson PA, Christie DM, Hardikar W, Wong MH, Suchy FJ. Cloning and molecular characterization of the ontogeny of a rat ileal sodium-dependent bile acid transporter. *J Clin Invest* 1995; 95: 745-54.
- Kanda T, Foucand L, Nakamura Y, *et al.* Regulation of expression of human intestinal bile acid-binding protein in Caco-2 cells. *Biochem J* 1998; 330: 261-5.

Tableau I				
ACIDES BILIAIRES ET RÉGULATION DE LA TRANSCRIPTION				
Gènes	Facteur transcriptionnel	Effecteur	Fonction	Références
Régulation négative				
HMGCoA synthétase	?	ACDC, ADC	synthèse du cholestérol	[26]
CYP 7A	FXR	ACDC, ADC,	synthèse des acides biliaires	[17]
CYP 27	?	ADC	synthèse des acides biliaires	[10]
NTCP	?	cholestase	captage acides biliaires/hépatocyte	[27]
CMH-II	Récepteur des glucocorticoïdes	AUDC	réponse immunitaire	[28]
MxA, 2'5'-OAS	?	ACDC	gène de réponse à IFN	[29]
NOS inductible	?	AUDC	inflammation	[30]
AcylCoA synthétase	?	cholestase	synthèse d'Acyl CoA	[31]
P53	?	ADC	suppresseur de tumeur	[32]
Régulation positive				
IBAT	FXR	ACDC, ADC	liaison acides biliaires/entérocyte	[17]
Cyclo-oxygénase 2 (COx-2)	AP-1	ACDC	inflammation	[33]
NTCP	?	ATC	captage acides biliaires/hépatocyte	[34]
Phospholipase A2	?	cholestase	inflammation	[35]
Erg, Fos	?	cholestase	second messenger, voie MAP-kinase	[36]
CMH-I	?	ACDC	réponse immunitaire	[37]

ACDC: acide chénodésoxycholique; ADC: acide désoxycholique; ATC: acide taurocholique; AUDC, acide ursodésoxycholique.

RÉFÉRENCES

4. Hagenbuch B, Meier PJ. Molecular cloning, chromosomal localization, and functional characterization of a human liver Na⁺/bile acid cotransporter. *J Clin Invest* 1994; 93: 1326-31.
5. Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, Steiger B, Schteingart CD, Hofmann AF, Meier PJ. Molecular and functional characterization of an organic anion transporting polypeptide cloned from human liver. *Gastroenterology* 1995; 109: 1274-82.
6. Linstedt S. The turnover of cholic acid in man. *Acta Physiol Scand* 1957; 40: 1-8.
7. Andersson K, Kok E, Javitt NB. Bile acid synthesis in man: Metabolism of 7 α -hydroxycholesterol-¹⁴C and 26-hydroxycholesterol ³H. *J Clin Invest* 1972; 51: 112-7.
8. Ericson S. Biliary excretion of bile acids and cholesterol in bile fistule rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 94: 578-98.
9. Heuman DM, Hylemon PB, Vlahcevic ZR. Regulation of bile acid synthesis. III. Correlation between biliary bile salt hydrophobicity index and the activities of enzymes regulating cholesterol and bile acid synthesis in the rat. *J Lipid Res* 1989; 30: 1161-71.
10. Twisk J, De Wit E, Princen HMG. Structural aspects of bile acids involved in the regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase and 27-hydroxylase. *Eur J Biochem* 1995; 228: 596-604.
11. Li YC, Wang DP, Chiang JYL. Regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase in the liver. Cloning, sequencing and regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase mRNA. *J Biol Chem* 1990; 265: 12012-9.
12. Anderson S, Davis DL, Dahlbäck H, Jörnvall H, Russell DW. Cloning, structure, and expression of the mitochondrial cytochrome P-450 sterol 26-hydroxylase, a bile acid biosynthetic enzyme. *J Biol Chem* 1989; 264: 8222-9.
13. Vlahcevic ZR, Pandak WM, Hylemon PB. Role of newly synthesized cholesterol or its metabolites on the regulation of bile acid biosynthesis following acute biliary diversion in the rat. *Hepatology* 1993; 18: 660-8.
14. Hylemon PB, Gurley EC, Stravitz RT, Litz JS, Pandak WM. Hormonal regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase mRNA levels and transcriptional activity in primary rat hepatocyte cultures. *J Biol Chem* 1992; 267: 16866-71.
15. Chiang JYL, Stroup D. Identification and characterization of a putative bile acid responsive element in cholesterol 7 α -hydroxylase gene promoter. *J Biol Chem* 1994; 269: 17502-7.
16. Stroup D, Crestani M, Chiang JYL. Identification of a bile acid response element in the cholesterol 7 α -hydroxylase gene CYP7A. *Am J Physiol* 1997; 273: G508-17.
17. Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, et al. Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science* 1999; 284: 1362-5.
18. Parks DJ, Blanchard SG, Bledsoe RK, et al. Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science* 1999; 284: 1365-8.
19. Forman BM, Goode E, Chen J, et al. Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell* 1995; 81: 687-93.
20. Janowski BA, Willy PJ, Devi TR, Falck JR, Mangelsdorf DJ. An oxysterol signalling pathway mediated by the nuclear receptor LXR α . *Nature* 1996; 383: 728-31.
21. Wang H, Chen J, Hollister K, Sowers LC, Forman BM. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. *Mol Cell* 1999; 3: 543-53.
22. Crestani M, Stroup D, Chiang JYL. Hormonal regulation of the cholesterol 7 α -hydroxylase gene (CYP7). *J Lipid Res* 1995; 36: 2419-32.
23. Crestani M, Sadeghpour A, Stroup D, Galli G, Chiang JYL. The opposing effects of retinoic acid and phorbol esters converge to a common response element in the promoter of the rat cholesterol 7 α -hydroxylase gene (CYP7A). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225: 585-92.
24. Huang XP, Fan XT, Desjeux JF, Castagna M. Bile acids, non-phorbol-ester-type tumor promoters, stimulate the phosphorylation of protein kinase C substrate in human platelets and colon cell line HT29. *Int J Cancer* 1992; 52: 444-50.
25. Stravitz RT, Rao YP, Vlahcevic ZR, Gurley EC, Jarvis WD, Hylemon PB. Hepatocellular protein kinase C activation by bile acids: Implication for regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase. *Am J Physiol* 1996; 34: G293-303.
26. Shefer S, Nguyen LB, Salen G, et al. Differing effects of cholesterol and taurocholate on steady state hepatic HMG-CoA reductase and cholesterol 7 α -hydroxylase activities and mRNA levels in the rat. *J Lipid Res* 1992; 33: 1193-200.
27. Twisk J, Hoekman MF, Muller LM, et al. Structural aspects of bile acids involved in the regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase and sterol 27-hydroxylase. *Eur J Biochem* 1995; 228: 596-604.
28. Gartung C, Ananthanarayanan M, Rahman MA, et al. Down-regulation of expression and function of the rat liver Na⁺/bile acid cotransporter in extrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 1996; 110: 199-209.
29. Podevin P, Rosmorduc O, Conti F, Calmus Y, Meier PJ, Poupon R. Bile acids modulate the interferon signalling pathways. *Hepatology* 1999; 29: 1840-7.
30. Invernizzi P, Salzman AL, Szabo C, Ueta I, O'Connor M, Setchell KDR. Ursodeoxycholate inhibits induction of NOS in human intestinal epithelial cells and *in vivo*. *Am J Physiol* 1997; 273: G131-8.
31. Ikemoto S, Takahashi M, Tsunoda N, et al. Cholate inhibits high-fat diet-induced hyperglycemia and obesity with acyl-CoA synthetase mRNA decrease. *Am J Physiol* 1997; 273: E37-45.
32. Palmer DG, Paraskeva C, Williams AC. Modulation of p53 expression in cultured colonic adenoma cell lines by the naturally occurring luminal factors butyrate and deoxycholate. *Int J Cancer* 1997; 73: 702-6.
33. Zhang F, Altorki NK, Mestre JR, Subbaramiah K, Dannenberg AJ. Curcumin inhibits cyclooxygenase-2 transcription in bile acid- and phorbol ester-treated human gastrointestinal epithelial cells. *Carcinogenesis* 1999; 20: 445-51.
34. Konieczko EM, Ralston AK, Crawford AR, Karpen SJ, Crawford JM. Enhanced Na⁺-dependent bile salt uptake by WIF-B cells, a rat hepatoma hybrid cell line, following growth in the presence of a physiological bile salt. *Hepatology* 1998; 27: 191-9.
35. Vishwanath BS, Frey FJ, Escher G, Reichen J, Frey BM. Liver cirrhosis induces renal and liver phospholipase A2 activity in rats. *J Clin Invest* 1996; 98: 365-71.
36. Brady LM, Beno DW, Davis BH. Bile acid stimulation of early growth response gene and mitogen-activated protein kinase is protein kinase C-dependent. *Biochem J* 1996; 316: 765-9.
37. Hillaire S, Boucher E, Calmus Y, et al. Effects of bile acids and cholestasis on major histocompatibility complex class I in human and rat hepatocytes. *Gastroenterology* 1994; 107: 781-8.

Philippe Podevin

Service d'hépatogastroentérologie, Hôpital Saint-Antoine, 184, rue du Faubourg-Saint-Antoine, 75012 Paris, France.

Raoul Poupon

Service d'hépatogastroentérologie, Hôpital Saint-Antoine, 184, rue du Faubourg-Saint-Antoine, 75012 Paris, France et Inserm U. 402, Faculté de médecine Saint-Antoine, 27, rue de Chaligny, 75012 Paris, France.

TIRÉS À PART

R. Poupon.