

SREBP-1c: un médiateur des effets transcriptionnels de l'insuline dans le foie

Les adaptations constantes de nos voies métaboliques à un environnement nutritionnel très variable permettent le maintien de l'homéostasie énergétique. Les hormones pancréatiques, insuline et glucagon, jouent un rôle majeur dans ce contrôle. A satiété, l'augmentation de la concentration plasmatique d'insuline permet l'augmentation de l'utilisation de glucose par les tissus insulino dépendants, muscles et tissus adipeux, ainsi que la diminution de la production de glucose et l'augmentation de la synthèse de glycogène et de lipides par le foie. A jeun, la concentration plasmatique d'insuline diminue tandis que celle du glucagon augmente. Il en résulte, d'une part, une diminution de l'utilisation de glucose par certains tissus comme les muscles oxydatifs, ce qui permet de l'économiser et d'en réserver l'utilisation à des organes strictement dépendants de ce substrat (cerveau, rétine, médulla rénale...) et, d'autre part, une augmentation de la production de glucose dans le foie par la voie de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse. Il existe deux niveaux de contrôle de ces voies métaboliques par les hormones pancréatiques: l'un met en jeu des modifications allostériques ou covalentes qui modulent à court terme l'activité de protéines déjà présentes (enzymes, transporteurs); l'autre, à long terme implique une modification de la transcription des gènes codant pour ces protéines.

Dans le foie, de nombreux gènes codant pour des enzymes du métabolisme énergétique sont contrôlés par l'état nutritionnel de l'organisme. Les études *in vitro* à partir de cultures primaires d'hépatocytes ont permis de distinguer deux grands groupes

de gènes: des gènes dont l'expression est contrôlée par l'insuline seule et des gènes dont l'expression nécessite à la fois la présence d'insuline et de glucose. Citons, pour le premier groupe, la glucokinase (GK), une enzyme de la glycolyse, dont la transcription est activée par l'insuline, et la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK), une enzyme de la néoglucogenèse dont la transcription est en revanche inhibée par l'insuline. Les gènes dont la transcription est activée à la fois par l'insuline et par le glucose codent pour des enzymes de la glycolyse, L-pyruvate kinase (L-PK), et de la lipogenèse comme par exemple la synthase des acides gras (FAS) et l'acétyl-CoA carboxylase (ACC).

Si les voies de signalisation de l'insuline et les nombreux intermédiaires impliqués commencent maintenant à être bien connus ([1] et *m/s* 1996, n° 11, p. 1247), les mécanismes des actions transcriptionnelles de l'insuline demeurent en revanche encore obscurs: en effet, malgré l'identification d'éléments de réponse à l'insuline dans les promoteurs de nombreux gènes, on ne connaît pas encore de facteur de transcription capable de se lier sur ces séquences et dont l'activité transcriptionnelle serait modulée par l'environnement nutritionnel [2].

Les résultats obtenus à partir des expériences de surexpression *in vivo* par transgénèse d'une classe de facteurs de transcription appelés SREBP (*sterol regulatory element binding protein*) nous ont conduits à formuler l'hypothèse selon laquelle l'une des isoformes de cette famille pouvait être impliquée dans la régulation nutritionnelle de l'expression de gènes hépatiques. En effet, la surexpression

hépatique de l'isoforme SREBP-1 entraîne, chez les souris mutantes, une induction importante de l'expression des gènes codant pour la FAS, l'ACC et de nombreuses enzymes lipogéniques [3, 4], gènes dont l'expression est entièrement sous le contrôle de l'insuline et du glucose [5].

Les facteurs de transcription SREBP ont été identifiés indépendamment, par deux groupes, au début des années 1990. Le groupe de Brown et Goldstein recherchait un facteur pouvant se lier sur une séquence de 10 pb appelée SRE (*sterol regulatory element*), présente dans les promoteurs des gènes codant pour des enzymes impliquées dans le métabolisme du cholestérol (récepteur des LDL, hydroxyméthylglutaryl CoA synthase et réductase). Après de nombreuses étapes de purification, quelques microgrammes de SREBP ont été obtenus à partir de cellules humaines Hela puis séquencés [6]. Le groupe de Bruce Spiegelman, en cherchant un facteur de transcription de la famille à domaine basique hélice-boucle-hélice pouvant jouer un rôle dans la différenciation adipocytaire, a identifié ADD1 (*adipocyte determination and differentiation factor 1*) qui est en fait l'analogue chez le rat de l'isoforme SREBP-1c humaine [7]. Le criblage d'une banque d'ADN complémentaires humains a en effet permis d'isoler trois isoformes des facteurs SREBP: SREBP-1a, SREBP-1c et SREBP-2. L'isoforme SREBP-2 est codée par le gène *SREBP-2* tandis que les isoformes SREBP-1a et SREBP-1c sont produites à partir du même gène, *SREBP-1*, par l'utilisation de deux promoteurs permettant la transcription alternative des deux premiers exons, les autres exons

étant communs aux deux isoformes. SREBP-1a et 1c diffèrent essentiellement au niveau de leur domaine de transactivation : celui de SREBP-1a est composé de 42 acides aminés (aa) dont 12 aa acides tandis que celui de SREBP-1c est beaucoup plus court puisqu'il n'est composé que de 24 aa dont seulement 6 aa acides. Ces différences structurales ne sont pas sans conséquence puisque les capacités de transactivation de SREBP-1a sont nettement plus fortes que celles de SREBP-1c. La localisation tissulaire et cellulaire de ces deux protéines est également différente. L'expression de SREBP-1c est en effet très intense dans le foie et les tissus adipeux, et importante dans les glandes surrénales, le cerveau et les muscles [8]. Quant à SREBP-1a, elle est principalement exprimée dans la rate, l'intestin et toutes les lignées dérivées d'hépatomes ou adipocytaires.

Contrairement à la plupart des facteurs de transcription, les facteurs SREBP sont synthétisés sous forme d'un précurseur, ancré dans les membranes du réticulum endoplasmique, (*figure 1*). Ils ont une structure semblable et sont composés de trois domaines : (1) un fragment aminoterminal de 480 acides aminés commun aux facteurs de transcription de la famille b-HLH-LZ (*basic domain-helix-loop-helix-leucine zipper*); (2) une région de 80 aa contenant deux segments transmembranaires séparés par 31 acides aminés projetés dans la lumière du réticulum endoplasmique; (3) un domaine de régulation carboxy-terminal de 590 aa. Les travaux réalisés depuis une dizaine d'années par l'équipe de Brown et Goldstein ont permis de comprendre les mécanismes complexes d'activation de SREBP 1a et 2 par la déplétion en cholestérol. Une des contributions majeures de ce groupe est la démonstration de l'existence d'un clivage protéolytique du précurseur membranaire par la déplétion en cholestérol. La forme mature de la protéine ainsi libérée migre ensuite dans le noyau et active la transcription de gènes cibles qui codent pour des protéines impliquées dans la capture et la synthèse de cholestérol (revue dans [9]). En ce qui concerne SREBP-1c, ce n'est en revanche que

très récemment que des études *in vivo* et *in vitro* ont révélé que sa régulation est différente de celle des deux autres isoformes. Les travaux du groupe de Bruce Spiegelman dans le tissu adipeux et nos propres travaux dans le foie ont en effet montré que dans ces tissus, l'expression de SREBP-1c, très faible quand l'animal est à jeun, est fortement induite s'il est ensuite soumis à un régime hyperglucidique [10, 11]. De plus, dans des cultures primaires d'hépatocytes, l'insuline stimule la transcription de SREBP-1c tandis que le glucagon, *via* la stimulation de l'AMPC, l'inhibe [11]. Des résultats semblables ont été obtenus par l'équipe de Brown et Goldstein montrant que l'expression de SREBP-1c est pratiquement nulle dans le foie de rats devenus diabétiques par l'injection de streptozotocine, mais augmente si ces animaux sont traités par l'insuline [12]. Ainsi il apparaît que l'expression de SREBP-1c et les mécanismes de son activation sont directement contrôlés par l'état nutritionnel de l'organisme.

Afin d'étudier le rôle de SREBP-1c dans la régulation transcriptionnelle et nutritionnelle des gènes hépatiques, nous avons surexprimé, dans des hépatocytes en culture primaire, une forme dominante négative de SREBP-1c. Cette stratégie repose sur le fait que SREBP-1c active la transcription de ses gènes cibles en se fixant, sous forme de dimères, sur des séquences *cis*-régulatrices. La forme dominante négative utilisée est une forme mature de SREBP-1c dont les domaines de dimérisation sont intacts mais qui ne peut plus se fixer à l'ADN en raison d'une mutation dans le domaine basique. La protéine mutée peut donc toujours former des dimères avec la protéine endogène qu'elle rend non fonctionnelle puisque ces dimères ne peuvent se lier à l'ADN. La surexpression de cette forme dominante négative de SREBP-1c dans les hépatocytes s'oppose à l'effet inducteur de l'insuline sur les gènes dont la transcription est activée soit par l'insuline seule (glucokinase), soit par l'insuline et le glucose (FAS, ACC) [11, 13]. Inversement, nous avons constaté que la surexpression d'une forme dominante positive de SREBP-1c, correspondant

à sa forme mûre nucléaire, permet l'activation de l'expression des gènes codant pour la glucokinase, la FAS et l'ACC [13], en l'absence de toute stimulation par l'insuline. Ces résultats permettent de conclure, qu'au moins *in vitro*, SREBP-1c active la transcription des gènes de la glycolyse et de la lipogenèse, en réponse à l'insuline.

La question se posait donc d'identifier les mécanismes par lesquels l'insuline active le facteur de transcription SREBP-1c (*figure 1*). Nous avons constaté que l'activation de la synthèse de SREBP-1c permet l'augmentation à la fois du précurseur membranaire et de la forme mûre, nucléaire, de SREBP-1c. Toutefois, on ne peut écarter l'hypothèse d'un processus semblable à celui déclenché par la déplétion en cholestérol qui permet d'activer SREBP-2 [9] : l'insuline, en activant une protéase spécifique, provoquerait le clivage de la forme membranaire de SREBP-1c et libérerait sa forme mature qui migrerait ensuite vers le noyau. Troisième possibilité, on sait que l'activité de transactivation de SREBP-1c est très faible comparée à celle de SREBP-1a et SREBP-2 et que ces deux isoformes sont phosphorylées et activées par la voie des MAP-kinases [14]. L'insuline pourrait également induire la phosphorylation de la forme mature nucléaire de SREBP-1c, et augmenter ainsi son efficacité transcriptionnelle en favorisant par exemple son interaction avec la machinerie basale de transcription.

En conclusion, il apparaît donc que, dans le foie, le facteur de transcription SREBP-1c est directement activé par l'insuline et l'état nutritionnel de l'organisme, et permet la transactivation des gènes de la glycolyse et de la lipogenèse. On ne sait pas en revanche si ces mécanismes de régulation sont aussi présents dans les autres tissus sensibles à l'insuline. Dans des lignées adipocytaires, le facteur SREBP-1c stimule l'activité promotrice des gènes codant pour la FAS et la leptine, gènes qui sont contrôlés par l'insuline [10]. L'expression de SREBP-1c est également importante dans le muscle, mais sa fonction dans ce tissu doit être précisée. Par ailleurs, il reste à déterminer l'implication de ce fac-

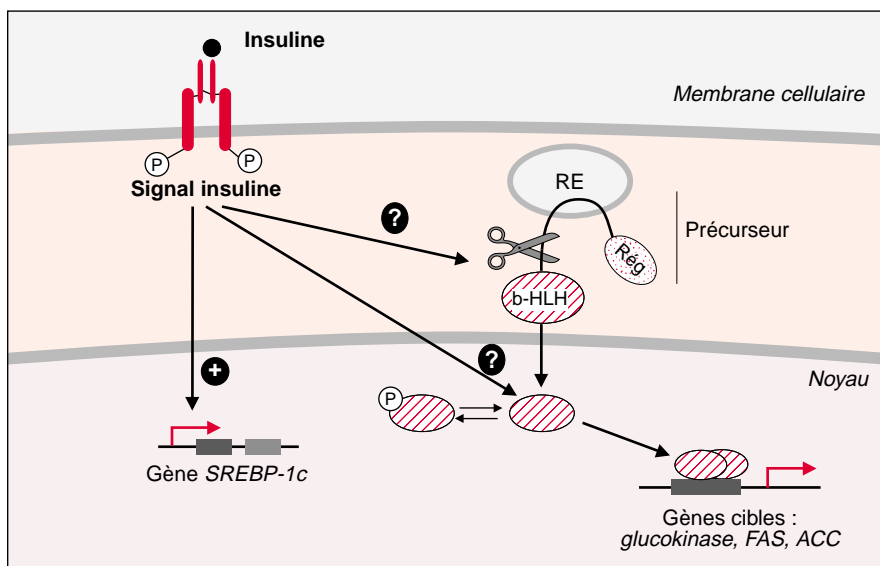


Figure 1. **Actions possibles de l'insuline sur SREBP-1c dans le foie.** L'insuline stimule la transcription du gène codant pour le facteur de transcription SREBP-1c. La protéine est synthétisée sous forme d'un précurseur ancré dans la membrane du réticulum endoplasmique. L'insuline pourrait également induire le clivage protéolytique de SREBP-1c et permettre la libération de la forme mûre de la protéine qui migrerait ensuite vers le noyau. On peut aussi envisager que l'insuline, par des mécanismes de phosphorylation, modifie l'efficacité transcriptionnelle de la forme mûre nucléaire.

teur de transcription dans l'inhibition par l'insuline de l'expression de certains gènes hépatiques. Le gène codant pour la PÉPCK apparaît évidemment comme une cible potentielle de SREBP-1c, mais à ce jour, aucun facteur de transcription, cible de l'insuline, n'a été clairement impliqué dans la régulation transcriptionnelle de cet enzyme. Les espoirs apportés par l'identification de la protéine forkhead FKHR restent très controversés [15].

Enfin, les modifications de l'activité transcriptionnelle de SREBP-1c pourraient être associées à certaines pathologies pour lesquelles on observe une altération du message insulinaire, par exemple les différentes formes de diabète non insulino-dépendant ou l'insulinorésistance ■

RÉFÉRENCES

1. White MF. The IRS-signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. *Mol Cell Biochem* 1998; 182: 3-11.

2. O'Brien RM, Granner DK. Regulation of gene expression by insulin. *Physiol Rev* 1996; 76: 1109-61.

3. Shimano H, Horton JD, Hammer RE, Shimomura I, Brown MS, Goldstein JL. Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a. *J Clin Invest* 1996; 98: 1575-84.

4. Shimano H, Horton JD, Shimomura I, Hammer RE, Brown MS, Goldstein JL. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J Clin Invest* 1997; 99: 846-54.

5. Girard J, Ferré P, Foufelle F. Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annu Rev Nutr* 1997; 17: 325-52.

6. Yokoyama C, Wang X, Briggs MR, et al. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell* 1993; 75: 187-97.

7. Tontonoz P, Kim JB, Graves RA, Spiegelman BM. ADD1: a novel helix-loop-helix transcription factor associated with adipocyte determination and differentiation. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 4753-9.

8. Shimomura I, Shimano H, Horton JD, Goldstein JL, Brown M. Differential expression of exons 1a and 1c in mRNAs for sterol

regulatory element binding protein-1 in human and mouse organs and cultured cells. *J Clin Invest* 1997; 99: 838-45.

9. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 1997; 89: 331-40.

10. Kim JB, Sarraf P, Wright M, et al. Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J Clin Invest* 1998; 101: 1-9.

11. Foretz M, Pacot C, Dugail I, et al. ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 3760-8.

12. Shimomura I, Bashmakov Y, Ikemoto S, Horton JD, Brown MS, Goldstein JL. Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 13656-61.

13. Foretz M, Guichard C, Ferré P, Foufelle F. Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 12737-42.

14. Kotzka J, Muller-Wieland D, Roth G, et al. Sterol regulatory element binding proteins (SREBP)-1a and SREBP-2 are linked to the MAP-kinase cascade. *J Lipid Res* 2000; 41: 99-108.

15. Durham SK, Suwanichkul A, Scheimann AO, et al. FKHR binds the insulin response element in the insulin-like growth factor binding protein-1 promoter. *Endocrinology* 1999; 140: 3140-6.

Fabienne Foufelle
Pascal Ferré
Marc Foretz

Inserm U. 465, Centre de recherches biomédicales des Cordeliers, Université Paris 6, 15, rue de l'École-de-Médecine, 75270 Paris Cedex 06, France.

TIRÉS À PART

F. Foufelle.