

Nrf1 et Nrf2, facteurs orphelins de la famille AP1, activeraient des gènes de détoxification

C'est en étudiant les facteurs de transcription contrôlant l'activité des gènes globine, et en particulier le facteur NF-E2, que l'équipe de Y.W. Kan a mis en évidence deux nouveaux facteurs [1, 2]. NF-E2, initialement décrit comme transactivateur du gène du porphobilinogène, est un facteur de spécificité érythroïde et un activateur du LCR de la β -globine. C'est un hétérodimère, dont une sous-unité, la protéine p45, appartient à la famille des facteurs de transcription AP1, protéines à glissière de leucine (bZIP), à laquelle appartiennent aussi les oncogènes Jun et Fos. En criblant une banque d'ADNc de la lignée érythroleucémique K562 par deux méthodes de sélection et de clonage d'expression en phage, les auteurs ont isolé successivement les ADNc des gènes de deux autres facteurs, qu'ils ont appelés Nrf1 et Nrf2 (*NF-E2-related factor 1* et 2). Les deux gènes ainsi isolés ont fait, alors, l'objet d'études approfondies. Leur séquence a été déterminée, la structure de la protéine pour laquelle ils codent prédite et comparée à celle d'autres protéines de la même famille, NF-E2 et protéine CNC (*cap and collar*) de la drosophile. La similitude est très importante au niveau de plusieurs domaines. Alors que les extrémités N-terminales sont de taille et de structure variables, on trouve dans la région C-terminale la typique répétition de leucines et de résidus hydrophobes, précédée par un domaine basique de fixation à l'ADN. La quasi-identité de cette dernière région a fait émettre l'hypothèse d'une sous-famille au sein du groupe AP1, et d'un ancêtre commun dont dériveraient les quatre protéines; la similitude est nettement

moindre avec d'autres protéines comme Jun et Fos. Dans leur partie amino-terminale, les deux protéines Nrf1 et Nrf2 comportent, comme la protéine CNC, une longue séquence riche en acide glutamique et acide aspartique (répétition WD), qui a les caractères d'un domaine d'activation acide, alors que celui de NF-E2 est riche en proline. Ce caractère d'activation de la transcription a été vérifié par transfection dans différents systèmes.

A la différence de NF-E2, cependant, la synthèse de Nrf1 et Nrf2 n'est pas limitée aux tissus érythroïdes, mais semble à peu près ubiquitaire, bien qu'à des niveaux variés selon les différents tissus. La localisation chromosomique par hybridation *in situ* des gènes codant pour les trois facteurs de transcription bZIP exprimés chez l'homme a montré que ces gènes ne sont pas localisés sur les mêmes chromosomes [3]. Il est cependant notable que l'environnement chromosomique des trois gènes est très semblable, comportant des gènes de la famille du collagène, des intégrines et de la famille Hox. Cela serait en accord avec l'hypothèse d'un ancêtre commun et d'une évolution par duplication.

Les auteurs se sont aussi dès l'origine posé la question de la fonction *in vivo* de ces facteurs de transcription «orphelins». Puisqu'ils étaient susceptibles d'activer les mêmes cibles, étaient-ils des facteurs redondants de NF-E2? Agissaient-ils sur d'autres protéines érythrocytaires, ferritine ou enzymes de la synthèse de l'hème? Les gènes ayant été clonés, une réponse a été cherchée dans des expériences d'inactivation par recombinaison homologe [4]. On

sait que l'inactivation ciblée du gène *p45-NFE2* se traduit surtout par un blocage de la maturation des mégakaryocytes, alors que l'érythropoïèse n'est que modérément perturbée [5, 6]. Les souris homozygotes *NFE2^{-/-}* meurent d'un syndrome hémorragique par absence de plaquettes, mais ne sont que modérément anémiques quand elles survivent. L'inactivation du gène *Nrf2* dans des cellules embryonnaires ES a permis d'obtenir des animaux *Nrf2^{-/-}*, chez lesquels n'ont été trouvés ni le gène ni la protéine. Aucun phénotype ne distingue ces animaux des témoins normaux. Ils se développent et se reproduisent normalement.

Mais alors, à quoi servent Nrf1 et Nrf2? La réponse à ces questions non résolues vient sans doute d'être apportée par une recherche effectuée dans une direction différente par une équipe de Philadelphie (PA, USA) [7]. La NAD(P)H:quinone oxydoréductase₁ (NQO₁) est une enzyme de détoxification qui, par réduction des quinones et de leurs dérivés, intervient avec d'autres enzymes dans une action coordonnée de protection des cellules contre le stress oxydatif. Une séquence du promoteur, appelée hARE (*human antioxidant response element*) est l'élément médiateur de la transcription à haut niveau de cette enzyme en réponse à l'action de différents xénobiotiques. L'élément hARE est une séquence de 24 pb, qui comporte deux sites de fixation AP1, l'un parfait, l'autre imparfait, séparés par 3 pb et suivis d'une boîte «GC». C'est un motif particulier en ce sens que les deux sites AP1 et le groupe GC sont nécessaires, un site AP1 unique semblant incapable de l'action détoxifiante spécifique. Un

élément semblable a été caractérisé dans le promoteur de la sous-unité α de la glutathion S-transférase (GST)Y de souris ou de rat. La fréquence dans de nombreux processus pathologiques des réactions de détoxification antioxydative en présence de xénobiotiques ou de carcinogènes, le rôle démontré de la séquence ARE, suggèrent l'importance des facteurs nucléaires se fixant à cette séquence et contrôlant donc l'expression des gènes *NQO1* et *GST Ya*. Un rôle régulateur de différentes protéines nucléaires de la famille API sur l'élément hARE et le gène *NQO1* a pu être vérifié en culture cellulaire d'hépatoblastome humain (Hep-G2) ou de rein de singe (COS1), par l'expression d'un gène rapporteur *CAT* et co-transfection de vecteurs d'expression des protéines explorées. Les auteurs ont ainsi démontré qu'une surexpression de *c-Fos* ou *Fra1* réprime l'élément hARE et qu'aucune des protéines de la famille Jun (*c-Jun*, *Jun-B*, *Jun-D*) ne semble avoir une action efficace. En revanche une surexpression de *Nrf1*

et/ou de *Nrf2* augmente de façon significative l'expression du gène rapporteur dans les cellules transfectées; cette régulation positive n'est pas retrouvée si le gène est en orientation inverse ou a été muté. A l'appui de cette observation, il est intéressant de noter la similitude entre le site hARE et le site initialement décrit au niveau du LCR du locus β -globine. On remarque aussi que les tissus dans lesquels, chez l'homme, sont synthétisés les facteurs *Nrf1* et *Nrf2* sont les mêmes que ceux où est retrouvée une expression du gène *NQO1*: un niveau élevé dans le rein, le muscle squelettique ou le poulmon, un niveau moindre dans le foie, le placenta, le cœur, plus faible encore dans le cerveau et le pancréas. Les éléments ARE semblent très conservés dans les promoteurs de différentes enzymes; il serait possible que *Nrf1* et *Nrf2* soient impliqués dans un processus général de détoxification. Le mécanisme de transduction du signal est encore une hypothèse. Il semblerait cependant plausible que

les xénobiotiques, donnant naissance par l'intermédiaire du cytochrome P450 et de la P450 réductase à des formes d'oxygène réactif, activent la transcription de *Nrf1* et *Nrf2* ou modifient les protéines, ce qui, dans une étape secondaire, modulerait l'expression de gènes de détoxification dont l'expression au repos est neutralisée par des facteurs de régulation négative (figure 1).

D.L.

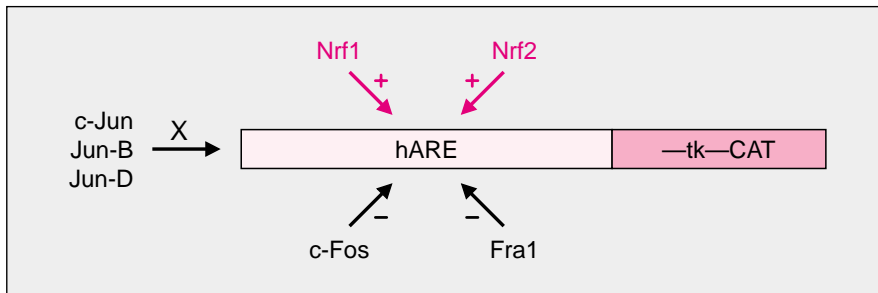


Figure 1. Régulation de l'élément de réponse hARE. Aucune des protéines de la famille Jun (*c-Jun*, *Jun-B*, *Jun-D*) ne semble avoir d'action (X). *c-Fos* et *Fra1* sont répresseurs, *Nrf1* et *Nrf2* activateurs de la transcription. Leur gène cible connu est *NQO1* (NAD(P)H: quinone oxydoréductase), impliqué dans la détoxification.

1. Chan JY, Han XL, Kan YW. Cloning of *Nrf1*, an NF-E2-related transcription factor, by genetic selection in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11371-5.
2. Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (*Nrf2*), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the β -globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9926-30.
3. Chan JY, Cheung MC, Moi P, Chan K, Kan YW. Chromosomal localization of the human NF-E2 family of bZIP transcription factors by fluorescence *in situ* hybridization. *Hum Genet* 1995; 95: 265-9.
4. Chan K, Lu R, Chang JC, Kan YW. NRF2, a member of the NFE2 family of transcription factors, is not essential for murine erythropoiesis, growth and development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 13943-8.
5. Shivdasani RA, Rosenblatt MF, Zucker-Franklin D, Jackson CW, Hunt P, Saris CJM, Orkin SH. Transcription factor NF-E2 is required for platelet formation independent of the actions of thrombopoietin/MGDF in megakaryocyte development. *Cell* 1995; 81: 695-704.
6. Shivdasani RA, Orkin SH. Erythropoiesis and globin gene expression in mice lacking the transcription factor NF-E2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8690-4.
7. Venugopal R, Jaiswal AK. *Nrf1* and *Nrf2* positively and *c-Fos* and *Fra1* negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H:quinone oxidoreductase₁ gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14960-5.

3^e CONGRÈS INTERNATIONAL INFECTIONS ET NÉOPLASIES DU BAS APPAREIL GÉNITAL DÉFIS ET STRATÉGIES

- Papillomavirus en pathologie humaine, état de l'art
- Nouveaux développements dans le dépistage du cancer du col – Conférence Eurogin – OMS
- Progrès dans la prise en charge des MST

PRÉSIDENTS HONORAIRES : H. Zur Hausen (Allemagne), L. Dubertret (France) – PRÉSIDENTS : L. Koss (USA), G. Orth (France) – COORDINATEUR SCIENTIFIQUE : J. Monsonogo (France)

PARIS-FRANCE-UNESCO
Secrétariat scientifique
J. Monsonogo
174, rue de Courcelles, 75017 Paris, France
Tél. : 33 01 47 66 05 29

Organisé par EUROGIN
EUROPEAN RESEARCH ORGANISATION ON GENITAL INFECTION AND NEOPLASIA

24-27 MARS 1997
Secrétariat du Congrès Baxon
69-73, avenue du Général-Leclerc, BP 304,
92102 Boulogne, France
Tél. : 33 01 46 20 04 56