

► Le cholestérol est synthétisé dans le réticulum endoplasmique (RE) puis transporté vers les compartiments cellulaires dont la fonction en nécessite un taux élevé. Nous décrivons ici le mécanisme de transport du cholestérol du RE vers le réseau *trans* golgien (TGN) par la protéine OSBP (*oxysterol binding protein*). Celle-ci présente deux activités complémentaires : elle arrime les deux compartiments, RE et TGN, en formant un site de contact où les deux membranes sont à une vingtaine de nanomètres de distance ; puis elle échange le cholestérol du RE avec un lipide présent dans le TGN, le phosphatidylinositol 4-phosphate (PI4P). Dans le RE, le PI4P est hydrolysé, rendant le cycle d'échange irréversible. OSBP est donc au cœur d'un marché d'échange de lipides dans lequel un cholestérol transporté « coûte » un PI4P. Des molécules à activités antivirales ou anticancéreuses ont pour cible OSBP, suggérant une importance dans différents contextes physiopathologiques du cycle d'OSBP, dont les bases générales sont partagées par d'autres protéines transporteurs de lipides. ◀

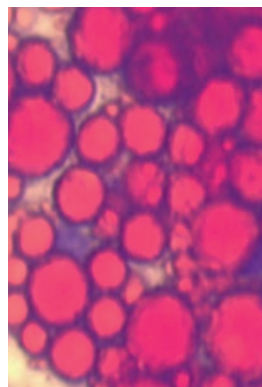
Bien qu'essentiel à nos cellules, le cholestérol a mauvaise réputation. On craint ses excès dans l'alimentation et on espère que ses taux soient raisonnables dans nos analyses sanguines, entendant qu'il existe un bon et un mauvais cholestérol. Cette distinction correspond à différentes particules de transport du cholestérol dans le sang : les lipoprotéines de basse densité (LDL) et les lipoprotéines de haute densité (HDL). Les deux sont essentielles, mais l'excès de LDL peut conduire à des accumulations de cholestérol sur la paroi des artères, un facteur de risque cardiovasculaire [1] (→). Nos cellules affrontent peu ou prou le même dilemme [2]. Certaines membranes cellulaires

(→) Voir la Synthèse de S. Morozova et al., m/s n° 6-7, juin-juillet 2004, page 685

Un marché d'échange de lipides

Transport vectoriel du cholestérol par la protéine OSBP

Joëlle Bigay, Bruno Mesmin, Bruno Antony



Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, Université Côte d'Azur et CNRS, UMR 7275, 660 route des Lucioles, 06560 Valbonne, France.
antonny@ipmc.cnrs.fr
bigay@ipmc.cnrs.fr

doivent avoir un taux élevé de cholestérol, d'autres, au contraire, un taux bas. Ainsi, la fraction moléculaire de cholestérol rapportée aux autres lipides des membranes, varie de 5-10 % dans les membranes les plus pauvres, à 30-50 % dans les membranes les plus riches, soit parfois autant de molécules de cholestérol que de tous les autres lipides. Ces variations s'accompagnent d'autres différences marquées dans la composition lipidique des organelles [3]. Globalement, chaque organelle a une composition lipidique définie qui est essentielle à sa fonction car déterminant les propriétés physiques de sa membrane, comme la déformabilité ou la perméabilité. Ainsi, le taux élevé de cholestérol dans la membrane plasmique qui entoure les cellules est important pour assurer son imperméabilité.

Ces différences de composition demandent à nos cellules de nombreux mécanismes de transport de cholestérol et un contrôle très strict de son taux [2]. Il existe plusieurs raisons à cela. D'abord, une grande part du cholestérol de nos cellules vient de l'extérieur et pénètre par endocytose au niveau de la membrane plasmique, en particulier *via* les récepteurs des LDL. Le cholestérol peut également être synthétisé dans le réticulum endoplasmique (RE). Cependant, cette organelle a un taux de cholestérol particulièrement bas. Dès lors, le cholestérol, après qu'il ait été synthétisé, doit être transporté vers les membranes qui en sont riches, en particulier la membrane plasmique. Notons enfin, que la majorité des compartiments membranaires échangent du matériel protéique par l'intermédiaire de vésicules de transport. Lorsque ces vésicules fusionnent avec un compartiment « accepteur », elles apportent nécessairement leurs propres lipides provenant du compartiment « donneur » à partir duquel elles se sont formées. Les trans-

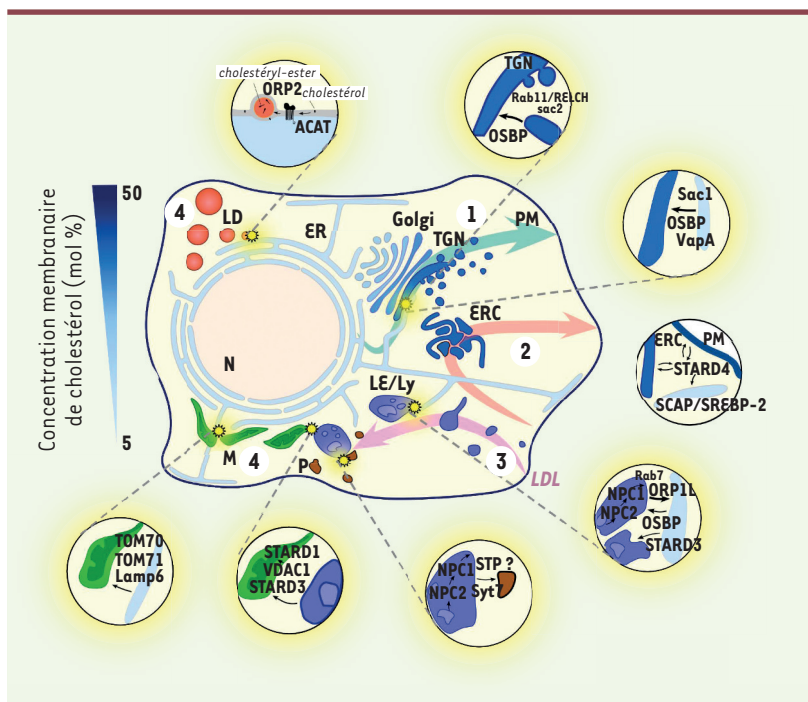


Figure 1. Échange du cholestérol entre les différentes organelles. Ces voies de transport sont très régulées, souvent coûteuses en énergie métabolique et aboutissent à des gradients de concentration du cholestérol. Les principales voies impliquées dans ce transport : 1. Voie de transport du cholestérol néo-synthétisé (RE > TGN > PM) ; 2. Voie de l'endocytose avec recyclage (PM > ERC > PM) ; 3. Voie de l'endocytose tardive (voie du récepteur LDL) ; 4a, b. Voies de transformation du cholestérol (cholestéryl ester au niveau RE > LD et oxystérols, acides biliaires *via* mitochondries et peroxyosomes). PM : plasma membrane ; RE : réticulum endoplasmique ; TGN : trans Golgi network ; ERC : compartiment de recyclage ; LE/Ly : endosome tardif/lysosomes ; P : peroxyosome ; M : mitochondrie ; N : noyau ; LD : lipid droplet.

ports vésiculaires peuvent donc tendre à homogénéiser la composition lipidique des membranes cellulaires. L'ensemble de ces considérations rend ainsi critique l'existence de mécanismes de transport vectoriel où le cholestérol est transporté de façon dirigée d'un compartiment à un autre et non dans le sens inverse.

La *Figure 1* montre les différentes voies impliquées dans le transport du cholestérol ainsi que les protéines associées [4]. Parmi les plus connues, citons NPC1 et NPC2 (ou *intracellular cholesterol transporter*) qui assurent l'export de cholestérol depuis les lysosomes. Ces protéines sont très étudiées car elles sont mutées dans la maladie de Niemann-Pick type C (NPC), qui entraîne des insuffisances hépatiques sévères ou des atteintes du système nerveux avec une forte accumulation de cholestérol dans divers tissus.

Cette revue se concentre sur le mécanisme de transport du cholestérol intracellulaire par la protéine OSBP (*oxysterol-binding protein*), protéine dont le rayon d'action va du RE à l'appareil de Golgi, certains endosomes et aux lysosomes [4-6]. Mais l'intérêt des études sur OSBP est plus large car elles ont permis des avancées importantes dans la biochimie et la biologie cellulaire des mécanismes du transport lipidique en général. Les travaux sur OSBP ont en effet contribué à mieux comprendre une caractéristique morphologique de nos organelles : les sites de contact membranaires. Observés depuis longtemps en microscopie électronique, ces sites sont des régions d'apposition entre deux organelles dans lesquelles leurs membranes respectives sont séparées d'environ 20 nm et où s'effectuent des échanges spécifiques d'ions et de lipides [5] (→).

Les études portant sur OSBP et sur Osh4, son homologue chez la levure, ont également permis de comprendre les processus responsables de la direction du transport et d'identifier la source d'énergie utilisée afin

qu'un lipide soit transporté d'une membrane A à une membrane B et non l'inverse.

Organisation moléculaire d'OSBP : l'idée du pont transbordeur

La forme humaine d'OSBP est constituée de 807 acides aminés qui forment 5 régions le long de la séquence primaire de la protéine (*Figure 2A*), avec, successivement, une région sans structure intrinsèque, un domaine d'homologie à la *Pleckstrine* (PH)¹, une région de dimérisation par enroulement hélicoïdal (*coiled-coil*), une région contenant un motif appelé FFAT (*two phenylalanines in an acidic tract*), et un domaine ORD (*OSBP-related domain*) [4,6,8,9]. D'autres protéines présentent une telle organisation : les ORP (pour *OSBP-related proteins*), une famille définie par OSBP, et les protéines CERT (*ceramide transport protein*) et FAPP2 (*four-phosphate-adaptor protein 2*) qui transportent respectivement le céramide et le glucosylcéramide [6]. En 2004, Tim Levine, remarquant l'organisation en domaines de ces protéines, proposa un modèle que nous résumons ici par l'image du pont transbordeur (*Figure 2B*). Ce modèle repose sur la découverte des capacités d'interaction respectives du domaine PH et du motif FFAT [6]. Les domaines PH d'OSBP, de CERT et

(→) Voir la Nouvelle de T. Di Mattia et al., *m/s* n° 1, janvier 2019, page 23

¹ Un domaine *Pleckstrin Homology* est un domaine d'environ 120 acides aminés présent dans de nombreuses protéines impliquées dans la signalisation intracellulaire. Certains de ces domaines reconnaissent des phosphoinositides.

de FAPP2, ont la particularité d'interagir spécifiquement avec la partie *trans* de l'appareil de Golgi, appelée TGN (*trans-Golgi network*). Cette interaction est due à la reconnaissance de deux molécules concentrées sur cette organelle : la protéine Arf(*ADP-ribosylation factor*)1-GTP et le lipide PI4P (phosphatidylinositol 4-phosphate), une forme phosphorylée du phosphatidylinositol. Le motif FFAT permet une interaction spécifique avec les protéines transmembranaires VAP (*vesicle-associated membrane protein-associated proteins*)-A et VAP-B exclusivement présentes dans le RE [7]. Levine proposa que la présence conjointe d'un domaine PH et d'un motif FFAT permet aux protéines de type OSBP, FAPP2 ou CERT de servir de pont entre la membrane du RE et celle du TGN. Ces protéines possèdent dans leur partie C-terminale un domaine capable d'extraire des lipides. Ce domaine pourrait donc transférer des lipides entre les deux membranes jointes par le domaine PH et le motif FFAT. Le modèle proposait ainsi une double fonction : la formation d'un site de contact membranaire RE-TGN et le transfert de lipide.

En 2013, nous avons montré la pertinence de ce modèle par des expériences où étaient comparées différentes constructions d'OSBP, soit dans des cellules soit sur des membranes artificielles [8]. La Figure 3A présente l'une de ces expériences. Une construction contenant le domaine PH et le motif FFAT est ajoutée à un mélange de deux liposomes. Le « donneur » contient un analogue fluorescent du cholestérol ainsi que la protéine VAP ; l'« accepteur » contient, lui, la protéine Arf1-GTP. « Donneur » et « accepteur » imitent ainsi respectivement les membranes du RE et du TGN. La construction PH-FFAT provoque l'attachement des liposomes entre eux. Dans une autre expérience (Figure 3B), OSBP catalyse très efficacement le transport du stérol du « donneur » vers l'« accepteur », et ce transport est facilité par la présence conjointe de VAP-A sur le « donneur » et d'Arf1-GTP sur l'« accepteur ». Ces expériences ont ainsi apporté la démonstration des deux activités biochimiques d'OSBP : le pontage membranaire et le transfert de cholestérol.

Le transport rétrograde et l'hydrolyse du PI4P assurent la direction du transfert de cholestérol

Dans la reconstitution précédente, le stérol est transféré des liposomes « donneurs » aux liposomes « accepteurs » parce qu'il est concentré dans les premiers et absent dans les seconds. Il s'équilibre donc entre les deux populations de liposomes et il n'y a pas besoin d'apport d'énergie extérieure. Mais dans la cellule, OSBP doit transporter le stérol des membranes du RE vers le TGN, c'est-à-dire d'un compartiment pauvre à un compartiment riche en stérol. Il doit en quelque sorte remonter la pente du gradient. Quand OSBP est inhibé par une molécule naturelle (comme les ORPphilines), le flux de cholestérol vers le TGN est fortement diminué [9]. Comment s'effectue la décision du sens du transport du cholestérol ?

L'énergie chimique nécessaire au transport vectoriel du stérol du réticulum vers le TGN est fournie par un autre lipide, le PI4P. Les expériences clés permettant d'identifier le PI4P comme source d'énergie furent d'abord réalisées sur Osh4, l'homologue d'OSBP chez la levure [10]. Osh4 peut transporter non seulement du stérol entre membranes

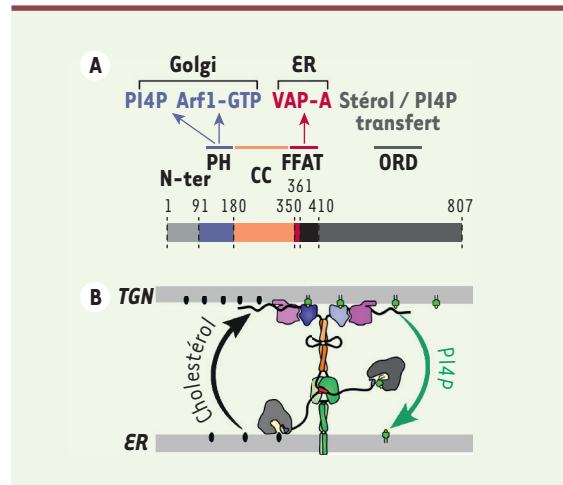


Figure 2. Organisation structurale et activités biochimiques d'OSBP. A. La séquence d'OSBP se divise en 5 régions : une région non structurée (N-Ter), un domaine Plekstrin homology (PH), une région de dimérisation (coiled-coil), un motif FFAT (two phenylalanines in an acidic trak), et un domaine ORD (OSBP-related domain). B. Sur le modèle d'un pont transbordeur, OSBP connecte deux membranes et échange cholestérol et PI4P entre les deux membranes apposées.

mais également du PI4P. Ce fut une grande surprise car les deux lipides sont très différents. Néanmoins, l'analyse de la structure d'Osh4 révèle clairement que le site hydrophobe de la protéine peut reconnaître spécifiquement soit un stérol soit un PI4P.

Le PI4P est synthétisé dans le TGN par la PI4-kinase IIIβ et est hydrolysé dans le RE par la phosphoinositide phosphatase Sac1. Lorsqu'OSBP dépose sur le TGN une molécule de stérol, celle-ci aura peu de probabilité d'être ré-extraite, car en compétition avec le PI4P qui y est abondant. Lorsque, en retour, le PI4P est déplacé du TGN vers le RE, il rencontre alors la protéine Sac1 et est hydrolysé. L'irréversibilité de l'hydrolyse fait que seul un nouveau cholestérol pourra être à nouveau extrait du RE. Le couplage entre transport antérograde du stérol et transport rétrograde du PI4P a été démontré expérimentalement, de même que l'avantage de l'hydrolyse du PI4P pour rendre le cycle irréversible [8,9,11]. Transporter un cholestérol d'un point A à un point B « coûte » donc un PI4P, qui, lui, sera transporté en sens inverse puis hydrolysé.

Les ORPphilines, des molécules naturelles aux propriétés anticancéreuses, inhibent OSBP

Les expériences que nous avons décrites furent essentiellement réalisées en utilisant des systèmes purifiés ou en sur-exprimant OSBP et ses partenaires dans des

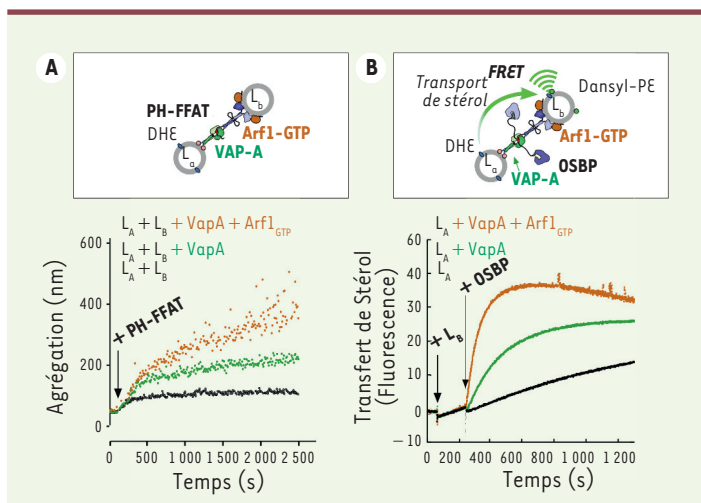


Figure 3. Mise en évidence des activités de pontage membranaire et de transfert lipidique d'OSBP. **A.** Suivi au cours du temps par diffusion quasi élastique de la lumière de l'assemblage de liposomes par le fragment PH-FFAT d'OSBP. **B.** Suivi au cours du temps par FRET (*fluorescence resonance energy transfer*) de l'échange d'un analogue fluorescent du cholestérol entre deux populations de liposomes par OSBP. La capacité de pontage d'OSBP et son activité de transfert de stérol dépendent de la présence de VapA et Arf1-GTP, respectivement sur les liposomes donneurs L_A (mimant le réticulum endoplasmique) et sur les liposomes accepteurs L_B (mimant le TGN).

cellules. La question suivante fut donc de valider ce modèle sur la protéine endogène de cellules.

En 2011, il fut découvert qu'OSBP était la cible d'une famille de molécules naturelles appelées ORPphilines (Figure 4A). Cette famille comprend des molécules assez variées mais qui présentent toutes des cycles ayant une ressemblance plus ou moins prononcée avec celui du cholestérol [12]. Pourquoi s'intéresser à cette famille ? Parce que les ORPphilines provoquent la mort d'un ensemble de lignées cancéreuses, dont la diversité n'avait jamais été observée précédemment, suggérant que les ORPphilines avaient une même cible et que celle-ci était différente des cibles connues d'autres molécules anticancéreuses. Ceci est important à considérer puisque ces cibles communes ouvrent de nouveaux angles d'attaque contre les cellules cancéreuses. Par chromatographie d'affinité, afin d'identifier le partenaire moléculaire des ORPphilines, puis par des mesures réalisées dans des systèmes cellulaires, les auteurs ont ainsi montré que les ORPphilines avaient pour cible OSBP, mais également une protéine voisine, ORP4 (*oxysterol-binding protein-related protein 4*) [12]. Depuis, la recherche sur les ORPphilines s'est amplifiée, avec pour objectif ultime une application clinique de ces molécules.

Une question reste néanmoins ouverte : quel processus unit OSBP et certaines lignées cancéreuses ? OSBP est une protéine ubiquitaire essentielle dès les stades précoces du développement. D'où la question de savoir si l'effet des ORPphilines que l'on observe repose uniquement sur une action sur OSBP. Reste que la découverte des ORPphilines permet aux biologistes de mieux étudier et comprendre la

fonction d'OSBP dans la cellule, grâce à des expériences simples dans lesquelles l'activité d'OSBP peut être bloquée à volonté par ces molécules [9].

L'ORPphiline OSW-1², est un composé isolé de la plante *Ornithogalum saundersiae*. De forte affinité pour OSBP (10 nM), elle inhibe à la fois le transfert de stérol et le transfert de PI4P par OSBP *in vitro* en agissant sur le domaine ORD (*OSBP-related domain*) [9]. Dans la cellule, OSW-1 induit une relocalisation très rapide d'OSBP et de VAP-A au niveau du TGN indiquant la stabilisation de sites de contacts RE/TGN. L'utilisation d'un analogue fluorescent du cholestérol afin de visualiser sa répartition dans les cellules, révèle qu'OSW-1 provoque la concentration de cet analogue dans les gouttelettes lipidiques provenant du RE au détriment de son efflux vers le TGN. La quantification de ces variations suggère qu'OSBP est responsable d'environ la moitié du flux de cholestérol entre les deux organelles. L'inhibition d'OSBP a des répercussions plus globales sur les membranes lipidiques de nombreux compartiments. En effet, un autre effet spectaculaire de l'inhibition d'OSBP par OSW-1 est la rapide augmentation du PI4P au niveau de l'appareil de Golgi [9]. Une dizaine de minutes après l'addition d'OSW-1 à la cellule, la concentration de PI4P, détectée par une sonde fluorescente ou mesurée par lipidomique, est multipliée d'environ deux fois, suggérant qu'à l'état stationnaire OSBP endogène consomme 50 % du PI4P cellulaire. OSBP semble donc bien agir comme une pompe à lipide qui consomme une grande partie du PI4P intracellulaire, et que l'on peut qualifier « d'ATP lipidique », pour transporter le cholestérol intracellulaire [13].

Détournement du cycle d'OSBP par des virus

Des molécules ayant une activité antivirale (Figure 4B) ont été utilisées en raison de leur effet sur OSBP. Elles ont permis de révéler l'implication d'OSBP dans le cycle de réplication de nombreux virus à

(→) Voir la Nouvelle de M. Rakoto-Andrianarivelo et al., m/s mai 2008, page 452

à l'interface RE-Golgi. À ce niveau, ils détournent sélectivement des facteurs de l'hôte afin de générer des réseaux tubulovésiculaires dont la composition protéique et lipidique est unique [15]. Ces structures, nouvelles, qualifiées d'usines de réplication (RO, pour *replication organelles* ou *replication factories*), sont

² 3beta, 16beta, 17alpha-trihydroxycholest-5-en-22-one 16-0-(2-0-4-methoxybenzoyl-beta-D-xylopyranosyl)-(1->3)-(2-0-acetyl-alpha-L-arabinopyranoside)

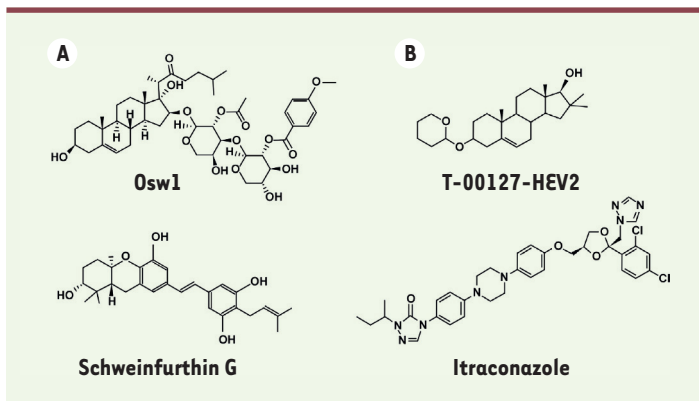


Figure 4. Principaux inhibiteurs d'OSBP. A. ORPphelines Osw1 et Schweinfurthine. **B.** Anti-viraux T-00127-HEV2 et itraconazole.

particulièrement enrichies en cholestérol et en PI4P et, dans de nombreux cas, sont pourvues d'une double enveloppe membranaire. Pour ces virus, l'un des rôles du PI4P est de stabiliser l'ancrage du complexe ARN polymérase au niveau des RO pour favoriser la synthèse de l'ARN viral. OSBP, qui contrôle autant le cholestérol que le PI4P, est enrichi au niveau de ces organelles de répllication. Dans le cas du rhinovirus, par exemple, l'échange cholestérol-PI4P par OSBP est important pour sa répllication [16]. OSBP a ainsi été identifié comme étant une cible directe de plusieurs nouvelles molécules à action antivirale [17]. Pour certaines, nous avons pu montrer que leur action reposait sur l'inhibition des activités de transfert de lipides, confirmant qu'OSBP est bien impliqué dans le cycle du virus ciblé [18-20]. Toutefois, l'espoir anticipé que ces nouvelles drogues puissent un jour éradiquer des fléaux tels que la poliomyélite, est assombri par des découvertes récentes qui indiquent que ces virus sont capables de muter et de modifier leur cycle afin de les rendre indépendants de la voie PI4P/OSBP, développant ainsi une résistance à ces drogues [20].

Les protéines ORP : variations sur un même thème

L'étude d'OSBP a contribué à une meilleure compréhension des sites de contact membranaires en fournissant un modèle général du fonctionnement des protéines de la famille ORP. Pourtant, des variations, tant pour le mode de pontage membranaire que pour les lipides échangés, existent entre les protéines de cette famille.

De nombreuses protéines ORP sont impliquées dans le transport du cholestérol, mais certaines, comme Osh (OSBP homologue) 6 et 7, ORP 5, 8 et 10 (et probablement ORP11) utilisent le PI4P comme monnaie d'échange pour transporter la phosphatidylsérine [21-23]. À l'instar du cholestérol, la phosphatidylsérine doit être activement transportée car ce lipide présente un fort gradient intracellulaire : elle est abondante à la membrane plasmique et rare dans le RE [3]. Les modes d'ancrage des ORP aux organelles montrent également certaines différences par rapport à ceux d'OSBP. Ainsi, ORP5 et ORP8 n'ont pas de motif FFAT mais possèdent un segment transmembra-

naire C-terminal ancré dans le RE [4]. Leur domaine PH interagit avec la membrane plasmique et non avec le TGN. Dans certains cas (ORP2,5,8), la monnaie d'échange pour délivrer un lipide à la membrane cible pourrait être un phosphoinositide autre que le PI4P, tel le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PI(4,5)P₂) qui est enrichi dans la membrane plasmique [24,25], ou le phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate (PI(3,4)P₂), pour ORP1L, sur la membrane des endosomes tardifs [26]. Très récemment, une activité d'échange entre cholestérol et PI4P par OSBP a été décrite entre le TGN et les endosomes de recyclage, en absence de la protéine VAP-A, mais sous le contrôle d'un complexe Rab11/RELCH [27]. La similitude ou la divergence de ces modes d'interaction restent donc à explorer.

D'une façon générale, l'inventaire des sites de contact impliquant différents ORP et les lipides échangés est encore loin d'être complet et constitue une branche très active de la biologie cellulaire. Certains sites de contact sont occupés par plusieurs transporteurs lipidiques (LTP, *lipid transfer proteins*) permettant un transfert coordonné de différentes classes de lipides, notamment entre le RE et le TGN [23,28] ou entre le RE et la membrane plasmique [29].

Rôle physiologique des protéines ORP

Quels sont les contextes physiologiques pour lesquels une activité de transfert ou d'échange de lipides par les protéines ORP est important ?

Dans le cas de voies de signalisation aboutissant à la brusque hydrolyse du PI(4,5)P₂, un système de transporteurs LTP permet d'échanger l'acide phosphatidique produit à la membrane plasmique avec un phosphatidylinositol du RE afin de permettre la régénération du PI(4,5)P₂ à la membrane plasmique pour d'autres cycles de transduction [29-31].

Des travaux récents montrent qu'OSBP peut transférer du cholestérol du RE vers la membrane externe des lysosomes. Ce transport contrebalance la sortie du cholestérol de ces organelles par le système de transporteurs NPC1/2 [32]. Dans la maladie de Niemann-Pick de type C, le dysfonctionnement des NPC et l'apport de cholestérol par OSBP a pour effet d'activer la voie mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*) qui contrôle positivement la croissance cellulaire et négativement l'autophagie. Inhiber OSBP permet de contrecarrer cet excès de cholestérol et d'éviter l'activation non contrôlée de mTORC1.

À la surface des endosomes tardifs, ORP1L (*oxysterol-binding protein-related protein 1L*) change de

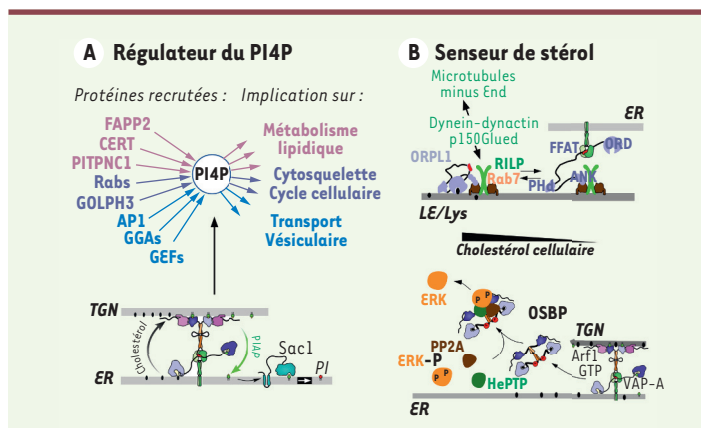


Figure 5. Fonctions des ORP. **A.** Par son activité d'échange cholestérol/PI4P, OSBP contrôle le niveau de PI4P à la surface du TGN, permettant une régulation coordonnée de diverses voies cellulaires. **B.** Régulation de fonctions cellulaires selon le taux de stérol cellulaire par les ORP. En haut, exemple du contrôle de l'interaction entre endosomes tardifs (LE/Ly), complexe (Rab7/RILP/p150Glued) et microtubules selon la charge en stérol d'ORP1L. En bas, exemple de la régulation de l'état de phosphorylation de ERK par le complexe OSBP/Cholestérol/HePTP/PP2A.

conformation en fonction du taux de cholestérol, ce qui contrôle sa liaison à VAP-A ou à la protéine RILP (*Rab-interacting lysosomal protein*), qui permet le déplacement des endosomes par des moteurs moléculaires. ORP1L apparaît donc comme un senseur de cholestérol servant à positionner des organelles dans la cellule en fonction de leur richesse en cholestérol [33].

OSBP a été également caractérisée pour être une plateforme d'interaction pour deux protéines phosphatases (HePTP [*haematopoietic protein tyrosine phosphatase*] et PP2A [*protein phosphatase 2A*]) contrôlant ainsi l'activité de la kinase ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) et la voie de signalisation des MAP Kinases (*mitogen-activated protein kinases*) en fonction du taux de cholestérol [34]. OSBP lié à un stérol peut aussi interagir avec la kinase JAK2 (*Janus kinase 2*), permettant la liaison puis l'activation de la protéine STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*). Par cette activation, STAT3 régule le niveau de profiline-1, une protéine impliquée dans la différenciation cellulaire *via* son action sur l'actine [35]. Ainsi, OSBP peut intervenir sur les voies de croissance et de différenciation cellulaire en agissant comme senseur du cholestérol cellulaire. Notons qu'OSBP est, elle-même, contrôlée par un mécanisme de phosphorylation : la PKD-1 (*phosphoinositide-dependent kinase 1*) phosphoryle en effet OSBP sur la sérine en position 240, entraînant son inactivation, sa localisation au niveau de l'appareil de Golgi, qui se fragmente alors [36,37].

La régulation par phosphorylation n'est pas réservée à OSBP. Ainsi la phosphorylation de ORP3 renforce son association avec VAP-A : les complexes ORP3-VAP-A ainsi formés stimulent la signalisation impliquant R-Ras [38]. Enfin, ORP9L, substrat de la PDK-2, est un régulateur négatif de la phosphorylation d'Akt (protéine kinase B) [39].

Conclusions

Les travaux récents portant sur la protéine OSBP ont apporté de nouveaux concepts en biologie cellulaire et ont permis de répondre à certaines questions : comment former un pont physique entre deux organelles, un site de contact membranaire, et comment transporter vectoriellement un lipide d'une organelle à une autre. Ces découvertes permettent de mieux comprendre l'homéostasie des membranes cellulaires, en particulier les mécanismes par lesquels nos organelles maintiennent une composition lipidique constante malgré les incessants échanges de matériels vésiculaires. Les recherches sur OSBP et d'autres protéines apparentées apportent des pistes nouvelles pour comprendre et combattre certaines infections virales, certaines formes de cancer, ou certaines maladies génétiques. ♦

SUMMARY

A lipid exchange market : vectorial cholesterol transport by the protein OSBP

Cholesterol is synthesized in the endoplasmic reticulum (RE) and then transported to cellular compartments whose functions require high cholesterol levels. Here, we describe the mechanism by which cholesterol is transported from the RE to the trans-Golgi network (TGN) by the protein OSBP (Oxysterol-Binding Protein). OSBP has two complementary activities. First, it tethers the RE to the TGN by forming a contact site where the two membranes are about twenty nanometers away. Then, it exchanges RE cholesterol for a TGN lipid, phosphatidylinositol 4-phosphate (PI4P). Eventually, PI4P is hydrolyzed at the RE, making the exchange cycle irreversible. Thus, OSBP is at the center of a lipid exchange market where a transported cholesterol "costs" a PI4P. Antiviral or anti-cancer molecules target OSBP, suggesting the importance of the OSBP cycle in different physiopathological contexts. The general principles of this cycle are shared by other lipid-transfer proteins. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Morozova S, Suc-Royer I, Auwerx J. Modulateurs du métabolisme du cholestérol et avenir du traitement de l'athérosclérose. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 685-90.
- Goldstein JL, DeBose-Boyd RA, Brown MS. Protein sensors for membrane sterols. *Cell* 2006 ; 124 : 35-46.
- Bigay J, Antony B. Curvature, lipid packing, and electrostatics of membrane organelles: defining cellular territories in determining specificity. *Dev Cell* 2012 ; 23 : 886-95.

RÉFÉRENCES

4. Luo J, Jiang LY, Yang H, et al. Intracellular Cholesterol Transport by Sterol Transfer Proteins at Membrane Contact Sites. *Trends Biochem Sci* 2019 ; 44 : 273-92.
5. Di Mattia T, Tomasetto C, Alpy F. MOSPD2, un connecteur inter-organites. *Med Sci (Paris)* 2019 ; 35 : 23-5.
6. Levine TP. Short-range intracellular trafficking of small molecules across endoplasmic reticulum junctions. *Trends Cell Biol* 2004 ; 14 : 483-90.
7. Loewen CJR, Roy A, Levine TP. A conserved RE targeting motif in three families of lipid binding proteins and in Opi1p binds VAP. *EMBO J* 2003 ; 22 : 2025-35.
8. Mesmin B, Bigay J, Moser von Filseck J, et al. A four-step cycle driven by PI(4)P hydrolysis directs sterol/PI(4)P exchange by the RE-Golgi tether OSBP. *Cell* 2013 ; 155 : 830-43.
9. Mesmin B, Bigay J, Polidori J, et al. Sterol transfer, PI4P consumption, and control of membrane lipid order by endogenous OSBP. *EMBO J* 2017 ; 36 : 3156-74.
10. de Saint-Jean M, Delfosse V, Douguet D, et al. Osh4p exchanges sterols for phosphatidylinositol 4-phosphate between lipid bilayers. *J Cell Biol* 2011 ; 195 : 965-78.
11. Moser von Filseck J, Vanni S, Mesmin B, et al. A phosphatidylinositol-4-phosphate powered exchange mechanism to create a lipid gradient between membranes. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 6671.
12. Burgett AWG, Poulsen TB, Wangkanont K, et al. Natural products reveal cancer cell dependence on oxysterol-binding proteins. *Nat Chem Biol* 2011 ; 7 : 639-47.
13. Antony B, Bigay J, Mesmin B. The oxysterol-binding protein cycle: burning off PI(4)P to transport cholesterol. *Annu Rev Biochem* 2018 ; 87 : 809-37.
14. Rakoto-Andrianarivelo M, Jegouic S, Bessaud M, et al. Poliovirus et entérovirus C, même espèce, même tribu virale. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 452-3.
15. Van der Schaar HM, Dorobantu CM, Albulescu L, et al. Fat(al) attraction: picornaviruses usurp lipid transfer at membrane contact sites to create replication organelles. *Trends Microbiol* 2016 ; 24 : 535-46.
16. Roulin PS, Lötzerich M, Torta F, et al. Rhinovirus uses a phosphatidylinositol 4-phosphate/cholesterol counter-current for the formation of replication compartments at the RE-Golgi interface. *Cell Host Microbe* 2014 ; 16 : 677-90.
17. Arita M. Phosphatidylinositol-4 kinase III beta and oxysterol-binding protein accumulate unesterified cholesterol on poliovirus-induced membrane structure. *Microbiol Immunol* 2014 ; 58 : 239-56.
18. Strating JRPM, van der Linden L, Albulescu L, et al. Itraconazole inhibits enterovirus replication by targeting the oxysterol-binding protein. *Cell Rep* 2015 ; 10 : 600-15.
19. Albulescu L, Bigay J, Biswas B, et al. Uncovering oxysterol-binding protein (OSBP) as a target of the anti-enteroviral compound TTP-8307. *Antiviral Res* 2017 ; 140 : 37-44.
20. Arita M, Bigay J. Poliovirus evolution toward Independence from the phosphatidylinositol-4 kinase III β /oxysterol-binding protein family I pathway. *ACS Infect Dis* 2019 ; 5 : 962-73.
21. Moser von Filseck J, Čopić A, Delfosse V, et al. Intracellular transport. Phosphatidylserine transport by ORP/Osh proteins is driven by phosphatidylinositol 4-phosphate. *Science* 2015 ; 349 : 432-6.
22. Chung J, Torta F, Masai K, et al. Intracellular transport. PI4P/phosphatidylserine countertransport at ORP5- and ORP8-mediated RE-plasma membrane contacts. *Science* 2015 ; 349 : 428-32.
23. Venditti R, Rega LR, Masone MC, et al. Molecular determinants of RE-Golgi contacts identified through a new FRET-FLIM system. *J Cell Biol* 2019 ; 218 : 1055-65.
24. Ghai R, Du X, Wang H, et al. ORP5 and ORP8 bind phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate (PtdIns(4,5)P₂) and regulate its level at the plasma membrane. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 757.
25. Wang H, Ma Q, Qi Y, et al. ORP2 delivers cholesterol to the plasma membrane in exchange for phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate (PI(4,5)P₂). *Mol Cell* 2018 ; 73 : 458-73.
26. Dong J, Du X, Wang H, et al. Allosteric enhancement of ORP1-mediated cholesterol transport by PI(4,5)P₂/PI(3,4)P₂. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 829.
27. Sobajima T, Yoshimura S-I, Maeda T, et al. The Rab11-binding protein RELCH/KIAA1468 controls intracellular cholesterol distribution. *J Cell Biol* 2018 ; 217 : 1777-96.
28. Hanada K. Lipid transfer proteins rectify inter-organelle flux and accurately deliver lipids at membrane contact sites. *J Lipid Res* 2018 ; 59 : 1341-66.
29. Saheki Y, Bian X, Schauder CM, et al. Control of plasma membrane lipid homeostasis by the extended synaptotagmins. *Nat Cell Biol* 2016 ; 18 : 504-15.
30. Kim YJ, Guzman-Hernandez ML, Wisniewski E, et al. Phosphatidylinositol-phosphatidic acid exchange by Nir2 at RE-PM contact sites maintains phosphoinositide signaling competence. *Dev Cell* 2015 ; 33 : 549-61.
31. Chang CL, Liou J. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate homeostasis regulated by Nir2 and Nir3 proteins at endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions. *J Biol Chem* 2015 ; 290 : 14289-301.
32. Lim C-Y, Davis OB, Shin HR, et al. RE-lysosome contacts enable cholesterol sensing by mTORC1 and drive aberrant growth signalling in Niemann-Pick type C. *Nat Cell Biol* 2019 ; 21 : 1206-18.
33. Rocha N, Kuijl C, van der Kant R, et al. Cholesterol sensor ORP1L contacts the RE protein VAP to control Rab7-RILP-p150 Glued and late endosome positioning. *J Cell Biol* 2009 ; 185 : 1209-25.
34. Wang PY, Weng J, Anderson RGW. OSBP is a cholesterol-regulated scaffolding protein in control of ERK 1/2 activation. *Science* 2005 ; 307 : 1472-6.
35. Romeo GR, Kazlauskas A. Oxysterol and diabetes activate STAT3 and control endothelial expression of profilin-1 via OSBP1. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 9595-605.
36. Amako Y, Syed GH, Siddiqui A. Protein kinase D negatively regulates hepatitis C virus secretion through phosphorylation of oxysterol-binding protein and ceramide transfer protein. *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 11265-74.
37. Nhek S, Ngo M, Yang X, et al. Regulation of oxysterol-binding protein Golgi localization through protein kinase D-mediated phosphorylation. *Mol Biol Cell* 2010 ; 21 : 2327-37.
38. Weber-Boyvat M, Kentalia H, Peränen J, et al. Ligand-dependent localization and function of ORP-VAP complexes at membrane contact sites. *Cell Mol Life Sci* 2015 ; 72 : 1967-87.
39. Lessmann E, Ngo M, Leitges M, et al. Oxysterol-binding protein-related protein (ORP) 9 is a PDK-2 substrate and regulates Akt phosphorylation. *Cell Signal* 2007 ; 19 : 384-92.

TIRÉS À PART

B. Antony

