

# Régulation du métabolisme du cholestérol et des acides biliaires par les récepteurs nucléaires LXR et FXR

Les récepteurs hormonaux nucléaires sont des facteurs de transcription dont l'activité est modulée par des ligands comme les stéroïdes, les rétinoïdes et les hormones thyroïdiennes [1]. Plusieurs études *in vitro* ont montré que les récepteurs nucléaires *liver X receptor* (LXR) et *farnesoid X receptor* (FXR) jouent un rôle important dans la régulation des voies métaboliques contrôlant la dégradation cellulaire du cholestérol en acides biliaires, en formant des hétérodimères avec RXR (*retinoid X receptor*) [2]. Cependant, seule la création de souris déficientes en LXR puis en FXR a permis de déterminer les rôles physiologiques complémentaires de ces deux récepteurs nucléaires sur l'homéostasie du cholestérol et des acides biliaires.

## LXR est impliqué dans le catabolisme hépatique du cholestérol

Les ligands du LXR constituent un groupe de métabolites issus du cholestérol, les oxystérols, qui s'accumulent dans le foie après un régime riche en cholestérol [1]. La création de souris déficientes en LXR $\alpha$  a permis de démontrer le rôle majeur de ce récepteur dans le catabolisme du cholestérol [3]. En effet, contrairement à ce que l'on observe chez les souris sauvages, l'expression de l'enzyme cholestérol 7 $\alpha$ -hydroxylase (Cyp7a) n'est pas augmentée chez les souris LXR $\alpha$ <sup>-/-</sup> soumises à un régime alimentaire riche en cholestérol. Or, la Cyp7a est l'enzyme clé permettant la transformation du cholestérol hépatique en acides biliaires, et donc son élimination (figure 1). *In vivo*, l'absence de LXR $\alpha$  a donc pour conséquence directe une accumulation hépatique anormale de cholestérol, ce phéno-

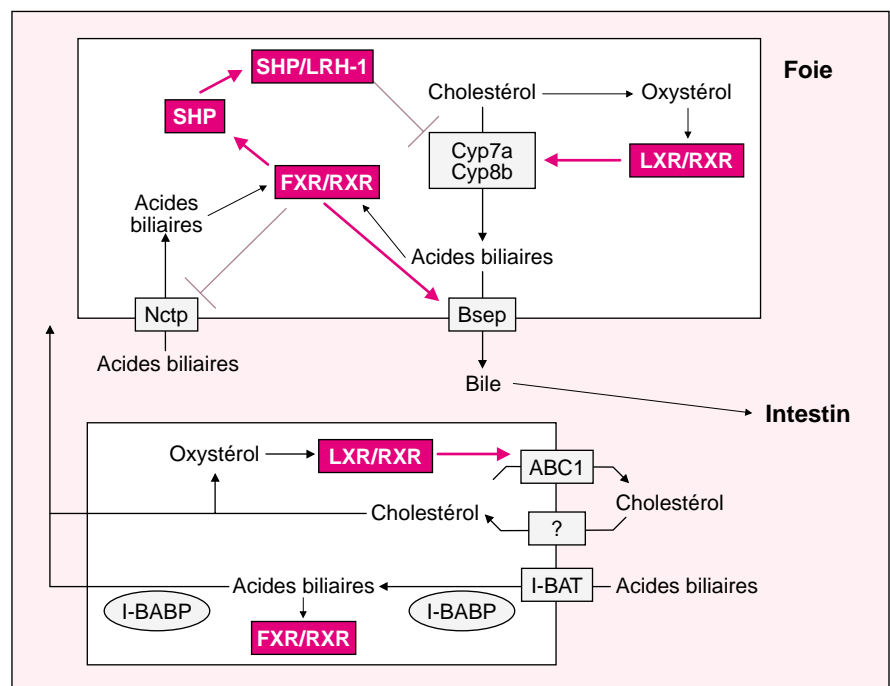


Figure 1. Régulation du métabolisme du cholestérol et des acides biliaires par les récepteurs nucléaires FXR et LXR. Dans le foie, le récepteur LXR activé par les oxystérols, des métabolites du cholestérol, stimule l'expression de la Cyp7a (cholestérol 7 $\alpha$ -hydroxylase) qui permet la transformation du cholestérol en acides biliaires. FXR (activé par les acides biliaires) stimule l'expression de Bsep (canaliculaire bile salt export pump) permettant leur élimination dans la bile, et inhibe celle de Nctp (Na-taurocholate cotransport protein) responsable du captage hépatique des acides biliaires plasmatiques et, de façon indirecte, inhibe aussi l'expression de Cyp7a et Cyp8b. L'activation de RXR entraîne une diminution de l'absorption intestinale du cholestérol par deux mécanismes : l'inhibition par les hétérodimères LXR/RXR du transporteur ABC1 responsable de l'efflux du cholestérol vers la lumière intestinale; et la diminution de la production d'acides biliaires via l'inhibition par l'hétérodimère FXR/RXR de leur synthèse hépatique. SHP: small heterodimer partner; LRH-1: liver receptor homolog 1; I-BABP: ileal bile acid binding protein; I-BAT: ileal bile acid transporter.

mène étant exacerbé chez des souris déficientes à la fois en LXR $\alpha$  et LXR $\beta$ . On connaît mal en revanche le rôle

exact que joue LXR $\alpha$  dans l'expression d'enzymes impliquées dans la biosynthèse du cholestérol [3].

## FXR: un récepteur fonctionnel des acides biliaires

On savait que les acides biliaires sont des ligands du récepteur FXR, mais ce n'est qu'avec l'obtention de souris déficientes en FXR que nous avons pu déterminer le rôle physiologique de ce récepteur, en particulier son importance dans le métabolisme des acides biliaires et du cholestérol [4]. Les souris mutantes, soumises à un régime alimentaire supplémenté en acide cholique, meurent, après une semaine de ce régime, d'une accumulation plasmatique d'acide cholique responsable en particulier de lésions hépatiques sévères. La sécrétion canaliculaire et l'excrétion fécale des acides biliaires, très augmentées chez les souris sauvages, ne le sont en revanche que très modérément chez les souris mutantes. Le régime alimentaire supplémenté en cholestérol entraîne une accumulation importante de cholestérol et de triglycérides dans le foie, comparé à ce que l'on observe chez les souris sauvages. De même, les concentrations en lipides plasmatiques sont supérieures à celles des souris sauvages.

Afin de préciser le rôle de FXR dans le métabolisme des acides biliaires et du cholestérol, nous avons dans un deuxième temps étudié les niveaux d'expression des gènes impliqués dans ces voies métaboliques chez les souris mutantes et sauvages soumises à un régime alimentaire standard ou supplémenté en acide cholique [4]. Nous avons ainsi pu montrer que la présence de FXR est nécessaire à l'obtention d'une réponse appropriée à l'accumulation d'acides biliaires (figure 1): (1) FXR contrôle positivement l'expression hépatique de BSEP (*canalicular bile salt export pump*), le principal système d'élimination des acides biliaires dans le canalicule biliaire, favorisant ainsi leur élimination dans la bile; (2) en revanche, FXR contrôle négativement l'expression de NCTP (*Na-taurocholate cotransporter protein*), responsable du captage hépatique des acides biliaires plasmatiques, ainsi que celle des enzymes Cyp7a et Cyp8b impliquées dans la synthèse d'acides biliaires à partir du cholestérol, évitant ainsi une accumulation

hépatique d'acide biliaire. L'effet de FXR sur ces deux enzymes est probablement indirect. Il augmente en effet l'expression d'un autre récepteur nucléaire appelé SHP (*small heterodimer partner*) qui, en se fixant au récepteur orphelin LRH-1 pour *liver receptor homolog 1*, l'empêche de stimuler l'expression génique de Cyp7a et Cyp8b [5, 6].

Enfin, nous avons contrôlé que FXR n'a aucun effet sur l'expression de son partenaire d'hétérodimérisation RXR ou sur celle de PPAR $\alpha$ , un autre récepteur nucléaire impliqué dans le métabolisme lipidique. En revanche, FXR règle positivement l'expression de LXR $\alpha$ , suggérant l'existence d'une régulation croisée entre ces deux récepteurs nucléaires.

### Hétérodimères RXR/LXR et RXR/FXR et absorption digestive du cholestérol

Le transporteur *ATP-binding cassette 1* (ABC1) appelé aussi CERP (*cholesterol efflux related protein*), dont les mutations sont responsables de la maladie de Tangier (*m/s 2000, n° 3, p. 421*), permet l'efflux du cholestérol cellulaire et constitue de fait une cible thérapeutique majeure pour le traitement de l'athérosclérose. Son rôle dans l'absorption digestive du cholestérol était jusqu'à très récemment inconnu. L'étude de souris invalidées pour ABC1 a permis de montrer que ce transporteur inhibe l'absorption digestive du cholestérol et que cet effet est probablement dû au transport du cholestérol de l'entérocyte vers la lumière intestinale [7]. Une étude récente de Repa *et al.* confirme maintenant ce schéma et montre que les hétérodimères RXR/LXR sont impliqués dans ce processus [8]. L'administration *in vivo* chez la souris, de LG268, un ligand très spécifique de RXR, provoque en effet une inhibition de l'absorption intestinale de cholestérol alimentaire, sans affecter celle des triglycérides, cet effet étant corrélé à une augmentation de l'expression de ABC1 dans l'intestin. Parmi les différents agonistes des récepteurs nucléaires susceptibles de former des hétérodimères avec RXR, seul l'agoniste de LXR est capable de reproduire cet effet. Il apparaît en

outre que la stimulation de l'expression de ABC1 est spécifique de l'hétérodimère RXR/LXR car aucun effet de l'un ou l'autre de ces agonistes n'est observé chez des souris déficientes à la fois en LXR $\alpha$  et LXR $\beta$ . De plus, l'effet de ces deux facteurs de transcriptions sur la transactivation du promoteur du gène *ABC1*, en association avec RXR, a été récemment démontrée *in vitro* [9]. Ainsi, LXR/RXR contrôle positivement l'expression entérocytaire de ABC1, ce qui augmente l'efflux de cholestérol intracellulaire vers la lumière intestinale et diminue l'absorption de cholestérol alimentaire [8].

Les auteurs montrent de plus que la diminution de la production hépatique d'acides biliaires, qui limite la solubilisation du cholestérol alimentaire, participe à l'inhibition de l'absorption digestive du cholestérol provoquée par les agonistes de RXR [8]. Ici, ce n'est cependant pas l'hétérodimère RXR/LXR qui est impliqué, mais plus probablement RXR/FXR, ce dernier inhibant en effet l'expression hépatique de Cyp7a et donc la transformation du cholestérol hépatique en acides biliaires [4].

Les effets de ces facteurs de transcription sur le transport intestinal des acides biliaires sont en revanche très peu connus: l'absence de FXR se traduit par l'abolition de l'expression de I-BABP (*ileal bile acid binding protein*), dont le rôle dans l'intestin reste mal connu, mais n'a pas d'influence sur l'expression de I-BAT (*ileal bile acid transporter*) qui permet le transport membranaire des acides biliaires (figure 1) [4].

En conclusion, le métabolisme hépatique et l'absorption intestinale du cholestérol sont contrôlés à de multiples niveaux par les métabolites du cholestérol et leurs récepteurs nucléaires (figure 1). L'étude des souris déficientes en LXR et en FXR a permis d'établir les rôles respectifs de ces deux récepteurs au niveau de la régulation de l'expression de gènes impliqués dans le contrôle de l'homéostasie du cholestérol *in vivo*. L'étude des doubles mutants FXR et LXR $\alpha/\beta$  devrait permettre de mieux appréhender les interactions croisées entre ces deux récepteurs nucléaires. Enfin, l'obtention de souris défi-

cientes en SHP et LRH-1 constitue probablement la prochaine étape qui permettra d'appréhender de façon intégrée les mécanismes gouvernant l'homéostasie du cholestérol.

1. Podevin P, Poupon R. Les acides biliaires modulent l'expression génique. *Med Sci* 1999; 15: 1472-5.
2. Russell DW. Nuclear orphan receptors control cholesterol catabolism. *Cell* 1999; 97: 539-42.
3. Peet DJ, Turley S D, Ma W, et al. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR alpha. *Cell* 1998; 93: 693-704.
4. Sinal CS, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez F. Targeted disruption of the nuclear receptor, FXR/BAR, impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell* 2000; 102: 731-44.

5. Goodwin B, Jones SA, Price RR, et al. A Regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1 and LRH-1 represses bile acid biosynthesis. *Molecular Cell* 2000; 6: 517-26.
6. Lu TT, Makishima M, Repa JJ, et al. Molecular basis for feedback regulation of bile acid synthesis by nuclear receptors. *Molecular Cell* 2000; 6: 507-15.
7. McNeish J, Aiello RJ, Guyot D, et al. Francone. High density lipoprotein deficiency and foam cell accumulation in mice with targeted disruption of ATP-binding cassette transporter-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 4245-50.
8. Repa JJ, Turley SD, Laboccaro JMA, et al. Regulation of Absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science* 2000; 289: 1524-9.
9. Costet P, Luo Y, Wang N, Tall A. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 28240-5.

#### Gilles Lambert

Molecular Disease Branch, National Heart Lung and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA.

#### Christopher J. Sinal

Laboratory of Metabolism, Division of Basic Sciences, National Institutes of Health, Bethesda, Bethesda, Maryland 20892, USA.

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Diabète et gène EIF2AK3.** La découverte de nombreux gènes impliqués dans diverses formes de diabète héréditaire a permis au cours de ces dernières années de mieux comprendre le développement et le fonctionnement des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans dans le pancréas. Un nouveau gène vient d'être découvert dans le syndrome de Wolcott-Rallison, maladie autosomique récessive rare qui se caractérise par un diabète néonatal insulino-dépendant s'accompagnant par la suite d'un retard staturo-pondéral, d'un retard mental ainsi que de nombreux troubles multisystémiques. Le locus fut situé en 2q11-12 grâce à un cas de malade porteur d'une délétion en mosaïque de cette région [1]. Puis, à partir de deux familles consanguines (l'une tunisienne, l'autre pakistanaise) comportant plusieurs malades dans la même fratrie, l'établissement des haplotypes et l'étude des recombinaisons a permis de réduire la

région d'intérêt à 3cM. Dans celle-ci se trouve le gène *EIF2AK3* qui pouvait faire un excellent candidat: fortement exprimé dans les îlots pancréatiques, il code pour une sous-unité d'une kinase appelée PEK (*pancreatic EIF2-alpha kinase*) identifiée chez le rat, puis retrouvée chez l'homme [2]. PEK appartient à cette famille de protéine kinases qui, en réponse à différents stress environnementaux, phosphorylent le facteur d'initiation de la traduction EIF2 (*eukaryotic translation initiation factor-2*) et freinent la synthèse des protéines. L'équipe de Cécile Julier vient de mettre en évidence des mutations dans les deux familles [3]. Présentes à l'état homozygote chez les malades, l'une d'elle doit avoir pour conséquence la formation d'une protéine tronquée dépourvue de l'ensemble du domaine catalytique tandis que l'autre, une transition G  $\rightarrow$  A, entraîne le changement d'une glutamine par une arginine dans le

domaine catalytique. Or, cet acide aminé est toujours conservé dans les eIF-2 $\alpha$ , kinases connues chez divers organismes vivants, des mammifères à la levure. *EIF2AK3* joue donc probablement un rôle dans le maintien de l'intégrité des cellules  $\beta$ . Il intervient peut-être aussi dans la régulation de l'expression de l'insuline en réponse au glucose. Bien que le syndrome de Wolcott-Rallison ne relève pas d'une étiologie auto-immune, certains éléments laissent supposer un processus physiologique voisin de celui du diabète de type 1 pour lequel les recherches de gènes de susceptibilité n'ont jamais orienté vers un locus en 2q11 [4].

[1. Portha B. *Med Sci* 1991; 7: 212-25.]

[2. Shi Y, et al. *Mol Cell Biol* 1999; 24: 5723-30.]

[3. Délépine M, et al. *Nat Genet* 2000; 25: 406-9.]

[4. Concannon P, et al. *Nat Genet* 1998; 19: 292-6.]

## ASSOCIATION POUR L'ÉTUDE DE LA PATHOLOGIE PÉDIATRIQUE

(Association déclarée par la loi du 1<sup>er</sup> juillet 1901 – JO 21 mai 1970)

### PRIX DE PATHOLOGIE PÉDIATRIQUE 2001

40 000 F – 20 000 F – 10 000 F

Madame Nicole Maraud / c/o Corinne Touzé

Laboratoire de Pathologie Pédiatrique – Pavillon François Lepage

Hôpital Cochin – Saint-Vincent-de-Paul – 74-82, avenue Denfert-Rochereau – 75674 PARIS Cedex 14 – Fax : 01 40 48 83 47

Date limite de dépôt des candidatures : le 2 avril 2001