

## La combinaison des deux inducteurs C/EBP $\alpha$ et RXR/PPAR $\gamma$ 2 détermine la différenciation des fibroblastes en adipocytes

Les adipocytes sont des cellules très différenciées qui jouent un rôle essentiel dans l'équilibre énergétique des organismes vertébrés en stockant, au moment des excès caloriques alimentaires, l'énergie sous la forme de triglycérides, ou bien en mobilisant ces réserves sous la forme d'acides gras au cours du jeûne. L'obésité associe deux phénomènes, l'accumulation des lipides dans des adipocytes préexistants et la différenciation *de novo* de nouveaux adipocytes. Les diverses étapes de la différenciation commencent à être bien connues [1]. On sait que différents agents sont impliqués dans la différenciation (hormone de croissance, insuline, glucocorticoïdes, AMPc...). Les lipides eux-mêmes semblent jouer un rôle d'inducteur de différenciation, surtout leur fraction riche en acides gras polyinsaturés. Au cours de ces dernières années, plusieurs facteurs de transcription ont été étudiés qui sont des régulateurs potentiels de ce processus de différenciation [2]. Parmi ces facteurs, le mieux caractérisé est C/EBP $\alpha$  (CCAAT/enhancer-binding protein  $\alpha$ ) (m/s n° 5, vol. 6, p. 486).

C/EBP $\alpha$  est un membre de la famille des protéines possédant un domaine de dimérisation de type *leucine-zipper*. L'expression de cette protéine n'est pas limitée au tissu adipeux mais elle est aussi retrouvée dans le foie, le placenta et l'intestin, tissus dont certaines cellules sont spécialisées dans le métabolisme énergétique (m/s n° 5, vol. 6, p. 486). Il est maintenant

clairement démontré que la protéine C/EBP $\alpha$  est impliquée dans la coordination de l'expression des gènes au cours de la différenciation adipocytaire [3, 4] et dans l'arrêt de la prolifération cellulaire [5, 6]. En revanche, son implication dans la détermination du lignage adipocytaire était encore controversée [7]. Deux approches utilisant des vecteurs rétroviraux [8] et des vecteurs d'expression inductible [9] viennent de montrer que C/EBP $\alpha$  est un effecteur de ce programme. Néanmoins, l'expression forcée de C/EBP $\alpha$ , que ce soit dans des cellules fibroblastiques ou dans des adipoblastes, ne provoque la transformation que de 50 % de ces cellules en adipocytes différenciés. Ces résultats, et le fait que l'expression de C/EBP $\alpha$  ne soit pas restreinte au tissu adipeux, laissent penser que la détermination adipocytaire impliquerait l'action combinée de la protéine C/EBP $\alpha$  et d'un ou de plusieurs autres facteurs de transcription, ou bien aussi qu'existerait un facteur de détermination encore inconnu.

Il y a quatre ans, l'équipe de Bruce Spiegelman (Boston, MA, USA) identifiait une région d'ADN du *enhancer* d'un marqueur de la différenciation terminale adipocytaire, le gène *aP2/422*, fixant un complexe ARF6, capable d'activer spécifiquement dans les adipocytes l'expression d'un gène indicateur [10, 11]. Depuis, Tontonoz *et al.*, du même groupe, ont démontré que ce complexe ARF6

est un hétérodimère formé des sous-unités RXR $\alpha$  et PPAR $\gamma$ 2 [12]. RXR $\alpha$  (*retinoid X receptor  $\alpha$* ) appartient à la famille des récepteurs de l'acide rétinolique (m/s n° 3, vol. 8, p. 283). PPAR $\gamma$ 2 (*peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  2*, m/s n° 3, vol. 8, p. 294) appartient à la famille des récepteurs nucléaires et est activé par les inducteurs peroxydomiaux, notamment les fibrates, et par les acides gras insaturés [13, 14]. Il existe plusieurs isoformes des PPAR, dont PPAR $\gamma$ , et plus particulièrement PPAR $\gamma$ 2, dont l'expression est plus restreinte au tissu adipeux blanc et brun. Tontonoz *et al.* [15] montrent que l'introduction dans des fibroblastes d'un vecteur rétroviral commandant la synthèse de PPAR $\gamma$ 2 permet l'induction de la différenciation de 30 % des fibroblastes en adipocytes mûrs en présence d'activateurs des PPAR $\gamma$ 2 comme les lipides polyinsaturés. En outre, ils montrent que la différenciation adipocytaire est optimisée jusqu'à 95 % en présence des inducteurs de PPAR $\gamma$ 2, lorsqu'il y a à la fois l'expression de PPAR $\gamma$ 2 et de C/EBP $\alpha$ . Une observation supplémentaire en faveur d'une expression coordonnée de ces inducteurs transcriptionnels est l'apparition d'une expression de PPAR $\gamma$ 2 dans les adipocytes obtenus après transfection du vecteur d'expression C/EBP $\alpha$ , et inversement, d'une expression de C/EBP $\alpha$  dans les adipocytes obtenus après transfection du vecteur d'expression PPAR $\gamma$ 2.

Il faut observer qu'un autre membre de la famille des PPAR, dénommé FAAR (*fatty acid-activated receptor*), qui est l'équivalent murin du récepteur orphelin NUC I, a été isolé récemment [16]. Le profil d'expression des messagers FAAR est moins spécifique que celui de PPAR $\gamma$ 2 (il serait même exprimé dans tous les types cellulaires, à des niveaux variables ; communication personnelle du Dr Grimaldi). Cependant, FAAR est exprimé avant PPAR $\gamma$ 2 dans les pré-adipocytes et est présent dans les fibroblastes. Si bien qu'une cascade d'événements pourrait survenir où FAAR serait le premier facteur relayant l'effet des acides gras et induisant l'apparition de PPAR $\gamma$ 2 et C/EBP $\alpha$ .

Quoi qu'il en soit, ces résultats sont riches de promesses d'une modulation pharmacologique de la différenciation adipocytaire et donc d'un possible traitement de l'obésité.

M.V.-C.

1. Casteilla L, Cousin B, Viguierie-Bascands N, Larrouy D, Pénicaud L. Hétérogénéité et plasticité cellulaires des tissus adipeux. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 1099-106.
2. Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr* 1994 ; 14 : 99-129.
3. Samuelsson L, Stromberg K, Vikman K, Bjursell G, Enerback S. The CCAAT/enhancer binding protein and its role in adipocyte differentiation : evidence for direct involvement in terminal adipocyte development. *EMBO J* 1991 ; 10 : 3787-93.
4. Lin FT, Lane MD. Antisense CCAAT/enhancer binding protein RNA suppresses coordinate gene expression and triglyceride accumulation during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Genes Dev* 1992 ; 6 : 533-44.
5. Umek RM, Friedman AD, McKnight SL. CCAAT/enhancer binding protein : a component of differentiation switch. *Science* 1991 ; 251 : 288-92.
6. Lin FT, MacDougald OA, Mae Diehl A, Lane MD. A 30-kDa alternative translation product of the CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$  message : transcriptional activator lacking antimetabolic activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 9606-10.
7. Freytag SO, Geddes TJ. Reciprocal regulation of adipogenesis by Myc and C/EBP $\alpha$ . *Science* 1992 ; 256 : 379-82.
8. Freytag SO, Paielli DL, Gilbert JD. Ectopic expression of the CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$  promotes the adipogenic program in a variety of mouse fibroblastic cells. *Genes Dev* 1994 ; 8 : 1654-63.

9. Lin FT, Lane MD. CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$  is sufficient to initiate the 3T3-L1 adipocyte differentiation program. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 8757-61.
10. Ross SR, Graves RA, Greenstein A, Platt KA, Shyu HL, Mellovitz B, Spiegelman BM. A fat-specific enhancer is the primary determinant of gene expression for adipocyte P2 *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 9590-4.
11. Graves RA, Tontonoz P, Ross SR, Spiegelman BM. Analysis of a tissue-specific enhancer : ARF6 regulates adipogenic gene expression. *Mol Cell Biol* 1992 ; 12 : 1202-8.
12. Tontonoz P, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM. mPPAR $\gamma$ 2 : tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev* 1994 ; 8 : 1224-34.
13. Gottlicher M, Widmark E, Li Q, Gustafsson JA. Fatty acids activate a chimera of the chlorofibric acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 4653-7.
14. Keller H, Dreyer C, Medin J, Mahfoudi A, Ozato K, Wahli W. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 2160-4.
15. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 1994 ; 79 : 1147-56.
16. Amri EZ, Bonino F, Ailhaud G, Abumrad NA, Grimaldi PA. Cloning of a protein that mediates transcriptional effects of fatty acids in preadipocytes. *J Biol Chem* 1995 ; 270 : 2367-71.

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **L'effet antileucémique d'un inhibiteur de tyrosine kinase ciblé vers une protéine membranaire.** La très grande majorité des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant sont dues à la prolifération de pré-curseurs des lymphocytes T synthétisant à leur surface la molécule CD19. Celle-ci est physiquement ou/et fonctionnellement liée à des tyrosine kinases de la famille Src, Fyn et Lck. Le complexe formé par CD19 et ces tyrosine kinases associées peut être considéré comme un transmetteur de signaux d'activation aboutissant à la prolifération cellulaire. Une isoflavone dénommée génistéine, synthétisée par le soja et des souches bactériennes, est un inhibiteur naturel des tyrosine kinases. La génistéine, cependant, pénètre mal dans les cellules. Des chercheurs de Minneapolis (MN, USA), associés à la firme Bris-

tol Mayer Squibb (Princeton, NJ, USA) [1], ont testé l'efficacité d'un produit de couplage de la génistéine avec un anticorps monoclonal dirigé contre CD19. A des doses dix fois plus faibles que celles induisant une toxicité, ce produit permet de détruire la quasi-totalité des cellules leucémiques humaines implantées chez la souris SCID (*severe combined immunodeficiency*). Tous les animaux traités survivent à long terme alors que la leucémie est rapidement fatale en l'absence de traitement. L'inhibiteur couplé est partiellement retenu au niveau de la membrane plasmique où il entraîne une puissante inhibition des tyrosine kinases associées à CD19. L'intérêt des résultats présentés et la qualité du travail déjà réalisé en terme de pharmacocinétique et de mode d'action justifient que soient rapidement engagés des

essais cliniques chez des malades souffrant de leucémie à cellules CD19<sup>+</sup> et ayant résisté aux autres traitements. Les données déjà obtenues sur l'utilisation d'anticorps anti-CD19 couplés à des toxines indiquent qu'une telle stratégie est bien tolérée, hormis une phase transitoire d'hypo- $\gamma$  globulinémie qu'il est aisé de compenser. Cette bonne tolérance signifie que CD19 est absent de la plupart des populations lymphocytaires normales. On pourrait également utiliser une telle stratégie pour épurer des auto-greffons de leurs cellules leucémiques résiduelles. Enfin, d'autres types de couplages pourraient permettre d'étendre l'efficacité de cet inhibiteur des tyrosine kinases à d'autres types de cancers.

[1. Uckun FM, *et al.* *Science* 1995 ; 267 : 886-91.]