

# **Les récepteurs nucléaires orphelins : régulateurs essentiels du développement, de l'organogenèse et de l'homéostasie**

---

Vincent Giguère

---

Les récepteurs nucléaires sont des facteurs de transcription dont l'activité est modulée par la présence de ligands spécifiques. Ils contrôlent des réseaux géniques complexes impliqués dans le développement embryonnaire, la différenciation cellulaire et l'homéostasie. La grande famille des récepteurs nucléaires inclut des récepteurs des hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes, et des dérivés actifs des vitamines A et D. Cette famille comprend également un très grand nombre de membres dont les ligands demeurent inconnus. Ces protéines, considérées comme des récepteurs potentiels, sont donc appelées récepteurs orphelins. L'identification des fonctions biologiques et des ligands associés aux récepteurs nucléaires orphelins aura non seulement un impact considérable sur nos connaissances des phénomènes biologiques impliqués dans le développement et l'homéostasie, mais elle ouvrira aussi des perspectives prometteuses dans la mise au point de nouveaux agents thérapeutiques pour le traitement de maladies diverses telles que le diabète et certains types de cancers.

---

## ADRESSE

V. Giguère : *professeur associé, directeur du groupe d'oncologie moléculaire*. Hôpital Royal-Victoria, 687, avenue des Pins-Ouest, Montréal, Québec, H3A 1A1 Canada.

**L**e développement embryonnaire, la croissance et le maintien de l'homéostasie d'un organisme complexe requièrent un contrôle spatial et temporel précis de l'expression de gènes spécifiques de chaque tissu. Les hormones lipophiles, telles que les hormones stéroïdiennes et

thyroïdiennes, jouent un rôle central dans ces processus physiologiques. Ces hormones, capables de traverser librement les membranes cellulaires, se lient à des récepteurs nucléaires dont la fonction est de transmettre le signal hormonal directement au noyau [1]. Le clonage moléculaire des gènes des récepteurs des hor-

## RÉFÉRENCES

1. Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988; 240: 889-95.
2. Glass CK. Differential recognition of target genes by nuclear receptors monomers, dimers, and heterodimers. *Endocrinol Rev* 1994; 15: 391-407.
3. Umesono K, Murakami KK, Thompson CC, Evans RM. Direct repeats as selective response elements for the thyroid hormone, retinoic acid, and vitamin D3 receptors. *Cell* 1991; 65: 1255-66.
4. Freedman LP. Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. *Endocrinol Rev* 1992; 13: 129-45.
5. Wilson TE, Fahrner TJ, Milbrandt J. The orphan receptors NGFI-B and steroidogenic factor 1 establish monomer binding as a third paradigm of nuclear receptor-DNA interaction. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 5794-804.
6. Giguère V, McBroom LDB, Flock G. Determinants of target gene specificity for ROR $\alpha$ 1: monomeric DNA-binding by an orphan nuclear receptor. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2517-26.
7. Rastinejad F, Perlmann T, Evans RM, Sigler PB. Structural determinants of nuclear receptor assembly on DNA direct repeats. *Nature* 1995; 375: 203-11.
8. Bourguet W, Ruff M, Chambon P, Gronemeyer H, Moras D. Crystal structure of the ligand-binding domain of the human nuclear receptor RXR- $\alpha$ . *Nature* 1995; 375: 377-82.
9. Renaud JP, Rochel N, Ruff M, Vivat V, Chambon P, Gronemeyer H, Moras D. Crystal structure of the RAR- $\gamma$  ligand-binding domain bound to all-trans retinoic acid. *Nature* 1995; 378: 681-9.
10. Wagner RL, Apriletti JW, McGrath ME, West BL, Baxter JD, Fletterick RJ. A structural role for hormone in the thyroid hormone receptor. *Nature* 1995; 378: 690-7.
11. Laudet V, Delannoy S. Comment mettre en route un récepteur nucléaire? Apport des données structurales. *Med Sci* 1996; 12: 528-32.

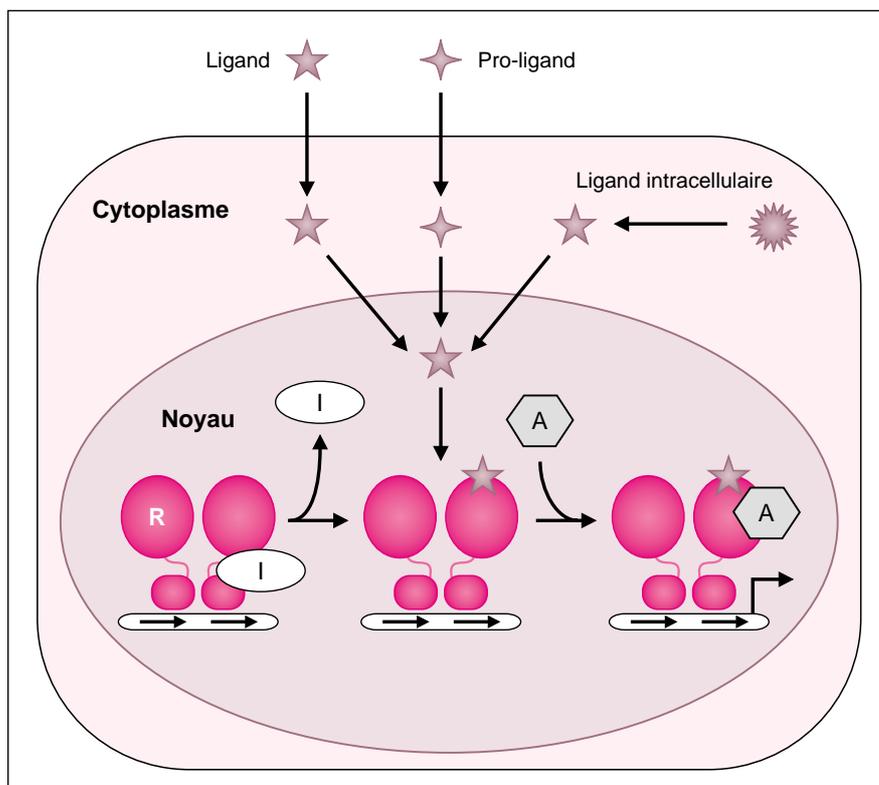


Figure 1. **Représentation schématique du mécanisme d'action des récepteurs nucléaires.** Ce schéma représente ce qu'on connaît du mécanisme d'action des récepteurs nucléaires classiques (dont le ligand est connu). Le ligand peut parvenir à la cellule cible sous une forme active ou sous forme de prohormone. Celle-ci devra être métabolisée en forme active par la cellule cible à l'aide d'enzymes spécifiques. Le ligand peut aussi être produit dans la cellule et ne jamais être sécrété. On peut penser que ce mode d'action, dit intracrine, sera privilégié par les récepteurs nucléaires orphelins. La liaison du ligand au récepteur (R) entraîne la libération d'une protéine inhibitrice (I), ce qui permet l'interaction avec des protéines activatrices (A) qui serviront de ponts entre les récepteurs et l'appareil de transcription de base.

mones stéroïdiennes et thyroïdiennes a permis, durant les dix dernières années, d'examiner et enfin de comprendre les mécanismes moléculaires par lesquels les complexes hormone-récepteur règlent l'expression des gènes de façon spécifique. Cependant, la découverte inattendue de l'existence d'une superfamille de gènes qui, à ce jour, comprend plus de soixante récepteurs nucléaires potentiels, a complètement remis en question nos connaissances sur les systèmes endocriniens impliquant des hormones liposolubles. L'identification des fonctions physiologiques des récepteurs nucléaires orphelins, appelés ainsi parce que les hormones pouvant les activer ne sont pas connues, représente un défi de taille. Néanmoins, l'utilisation des tech-

niques de la biologie moléculaire moderne a grandement facilité l'étude des mécanismes d'action de ces récepteurs et a permis de mettre en lumière plusieurs de leurs fonctions, essentielles au développement de l'embryon et de l'homéostasie chez l'animal adulte.

En outre, l'étude des récepteurs nucléaires orphelins offre l'occasion de mettre à jour des systèmes de signaux intracellulaires et intercellulaires jusqu'à présent inconnus.

De façon générale, le mécanisme d'action des récepteurs nucléaires est le même pour tous les membres de la superfamille (figure 1). Les ligands des récepteurs nucléaires ont la propriété de pouvoir diffuser à travers les membranes biologiques et, par conséquent, d'interagir de façon spé-

## RÉFÉRENCES

12. Lee JW, Choi HS, Gyurist J, Brent R, Moore DD. Two classes of proteins dependent on either the presence or absence of thyroid hormone for interaction with the thyroid hormone receptor. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 243-54.
13. Cavaillès V, Dauvois S, L'Horset F, Lopez G, Hoare S, Kushner PJ, Parker MG. Nuclear factor RIP140 modulates transcriptional activation by the estrogen receptor. *EMBO J* 1995; 14: 3741-51.
14. Oñate SA, Tsai SY, Tsai MJ, O'Malley BW. Sequence and characterization of a coactivator for the steroid hormone receptor superfamily. *Science* 1995; 270: 1354-7.
15. Cavaillès V. A la recherche des modulateurs de l'activité transcriptionnelle des récepteurs nucléaires. *Med Sci* 1996; 12: 229-33.
16. Chen JD, Evans RM. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors. *Nature* 1995; 377: 454-7.
17. Horlein AJ, Naar AM, Heinzl T, Torchia J, Gloss B, Kurokawa R, Ryan A, Kamel Y, Soderstrom M, Glass CK, Rosenfeld MG. Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor. *Nature* 1995; 377: 397-404.
18. Gronemeyer H, Laudet V. Transcription factor 3: nuclear receptors. *Protein Profile* 1995; 2: 1173-308.
19. Giguère V, Tini M, Flock G, Ong ES, Evans RM, Otulakowski G. Isoform-specific amino-terminal domains dictate DNA-binding properties of ROR $\alpha$ , a novel family of orphan nuclear receptors. *Genes Dev* 1994; 8: 538-53.
20. McBroom LDB, Flock G, Giguère V. The non-conserved hinge region and distinct amino-terminal domains of the ROR $\alpha$  orphan nuclear receptor isoforms are required for proper DNA bending and ROR $\alpha$ -DNA interactions. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 796-808.

cifique avec des récepteurs intracellulaires. Certaines molécules (proligands) doivent être métabolisées par la cellule cible avant de pouvoir être reconnues par leurs récepteurs. D'autres ligands sont synthétisés *de novo* par la cellule cible et n'exercent pas un rôle endocrinien au sens classique du terme. L'action de ces ligands est limitée au niveau intracellulaire, et l'on dit que leur mode d'action est intracrine. Ce mode d'action constitue probablement une raison majeure pour laquelle plusieurs récepteurs orphelins n'ont pu être identifiés lors d'études endocrinologiques classiques. Une fois formés, les complexes ligand-récepteur agissent comme régulateurs de l'expression génique. L'activité des récepteurs nucléaires est aussi contrôlée par des co-facteurs inhibiteurs ou activateurs dont la liaison aux récepteurs est fonction de l'absence ou de la présence d'une hormone.

Les récepteurs nucléaires sont composés de plusieurs domaines fonctionnels qui sont arrangés en modules autonomes (figure 2A). Le domaine responsable de la liaison à l'ADN (module C) est situé dans la région centrale de la protéine. Les récepteurs nucléaires lient de courtes séquences d'ADN, connues sous le nom d'éléments de réponse hormonale, qui sont spécifiques de chaque sous-groupe de récepteurs. Pour les récepteurs nucléaires orphelins, les éléments de réponse hormonale sont composés d'une séquence minimale de six paires de bases, AGGTCA (*m/s n° 2, vol. 5, p. 125*), et, quand ils sont dupliqués, ces demi-sites peuvent prendre des configurations variées (figure 2B). Les récepteurs nucléaires peuvent se lier, soit en tant que monomères à un seul demi-site, soit en tant qu'homodimères ou hétérodimères à deux demi-sites configurés de façon inversée, éversée ou répétée en tandem [2]. La spécificité de liaison de chaque récepteur nucléaire est dictée à la fois par la configuration prise par les demi-sites et par le nombre de nucléotides séparant chaque demi-site [3]. De cette manière, un très grand nombre d'éléments de réponse hormonale peuvent être produits en utilisant un seul demi-site qui est pratiquement commun à tous les récepteurs

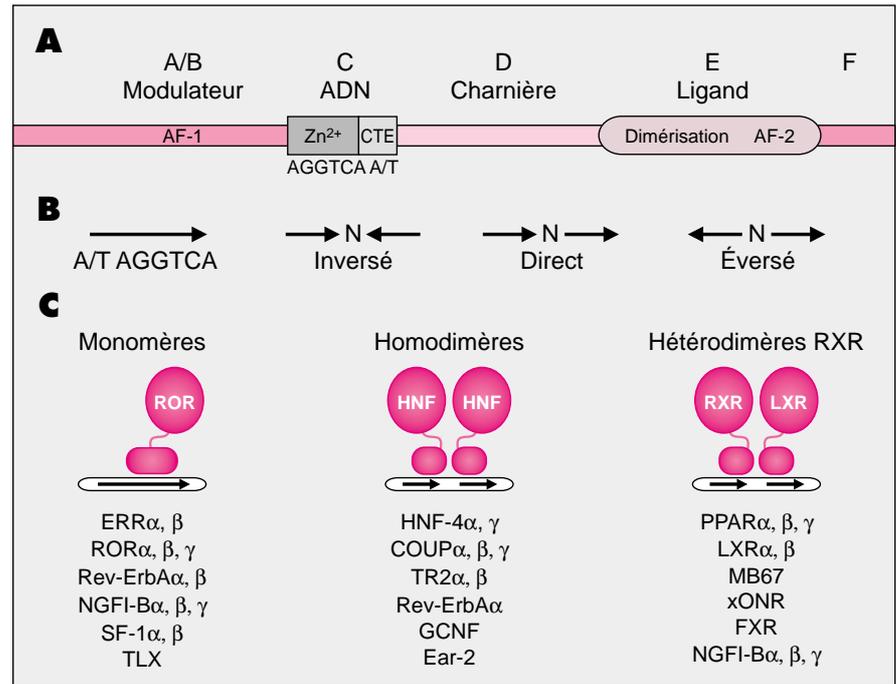
nucléaires. Le module C peut être subdivisé en deux régions fonctionnelles. La première, un domaine contenant deux atomes de zinc (Zn<sup>2+</sup>), participe à la fois à la reconnaissance spécifique du demi-site AGGTCA et au processus de dimérisation des récepteurs lorsqu'ils sont liés à l'ADN [4]. La deuxième, qui constitue une extension de la région carboxy-terminale du domaine de liaison à l'ADN, est impliquée dans la reconnaissance des courtes séquences d'ADN riches en résidus A et T qui précèdent le demi-site AGGTCA dans certains éléments de réponse hormonale. Ce type d'élément de réponse hormonale est reconnu par les récepteurs nucléaires qui se lient à l'ADN sous forme de monomères, comme nous le verrons plus loin [5, 6].

Le domaine de liaison de l'hormone (module E) exerce de multiples fonctions. Outre la spécificité de son mode de liaison au ligand, il est aussi responsable de la dimérisation des récepteurs en solution. Le processus de dimérisation se fait donc en deux étapes. La première ayant lieu en solution entre deux modules E et la deuxième impliquant les modules C maintenant capables, du fait de leur proximité, de reconnaître de façon spécifique les éléments de réponse hormonale. La surface de dimérisation du module E étant la même quelle que soit la configuration de l'élément de réponse hormonale, ce mécanisme implique que le domaine C doit pouvoir tourner sur lui-même afin d'accommoder les éléments de réponse hormonale inversés ou répétés en tandem, certains récepteurs reconnaissant les deux [7]. La rotation du module C est assurée par le domaine charnière (module D).

Une fois liés à l'ADN, les récepteurs nucléaires doivent moduler de façon positive ou négative l'expression des gènes cibles. Le module E incorpore une fonction activatrice (domaine AF-2) dont l'activité dépend, dans les récepteurs nucléaires classiques, de la présence du ligand. Les études récentes de la structure des récepteurs nucléaires par cristallographie par rayons X semblent montrer qu'en l'absence du ligand, le domaine AF-2 forme une hélice amphipatique  $\alpha$  qui flotte librement en solution [8]. En présence du ligand, l'hélice AF-2 se replie sur le

## RÉFÉRENCES

21. Harding HP, Lazar MA. The monomer-binding orphan receptor Rev-erb represses transcription as a dimer on a novel direct repeat. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 4791-802.
22. Retnakaran R, Flock G, Giguère V. Identification of RVR, a novel orphan nuclear receptor that acts as a negative transcriptional regulator. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 1234-44.
23. Jiang G, Nepomuceno L, Hopkins K, Sladek FM. Exclusive homodimerization of the orphan receptor hepatocyte nuclear factor 4 defines a new subclass of nuclear receptors. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 5131-43.
24. Qiu Y, Krishnan V, Pereira FA, Tsai SY, Tsai MJ. Chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factors and their regulation. *J Ster Biochem Mol Biol* 1996; 56: 81-5.
25. Mangelsdorf DJ, Ong ES, Dyck JA, Evans RM. Nuclear receptor that identifies a novel retinoic acid response pathway. *Nature* 1990; 345: 224-9.
26. Mangelsdorf DJ, Umesono K, Evans RM. The retinoid receptors. In: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS, eds. *The retinoids*. New York: Raven Press, 1994: 319-49.
27. Lavau C, Jansen J, Weis K, Lamond A, Dejean A. Leucémie aiguë promyélocytaire et acide rétinolique: le paradoxe. *Med Sci* 1994; 10: 817-24.
28. Leblanc BP, Stunnenberg HG. 9-*cis* retinoic acid signaling: changing partners causes some excitement. *Genes Dev* 1995; 9: 1811-6.
29. Lala DS, Ikeda Y, Luo X, Baity LA, Meade JC, Parker KL. A cell-specific nuclear receptor regulates the steroid hydroxylases. *Steroids* 1995; 60: 10-4.
30. Shen WH, Moore CCD, Ikeda Y, Parker KL, Ingraham HA. Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the Müllerian inhibiting substance gene: a link to the sex determination cascade. *Cell* 1994; 77: 651-61.
31. Sladek FM, Zhong W, Lai E, Darnell JE Jr. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily. *Genes Dev* 1990; 4: 2353-65.
32. Luo X, Ikeda Y, Parker KL. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. *Cell* 1994; 77: 481-90.



**Figure 2. Anatomie et mode de liaison à l'ADN des récepteurs nucléaires.** Le tableau du haut montre la structure modulaire des domaines fonctionnels (A-F) des récepteurs nucléaires. Le domaine de liaison à l'ADN (C) est divisé en deux segments, l'un contenant les « doigts de zinc » ( $Zn^{2+}$ ) qui établissent un contact avec le demi-site AGGTCA, et l'autre contenant l'extension carboxy-terminale (CTE) qui interagit avec la séquence riche en résidus A et T. Le domaine de liaison à l'hormone (E) contient une fonction de dimérisation et une fonction activatrice (AF-2). La région amino-terminale (A/B) du récepteur peut aussi contenir une fonction activatrice (AF-1). Il est à noter que certains récepteurs ne possèdent pas tous ces domaines fonctionnels. Les éléments de réponse hormonale sont représentés dans la partie centrale du diagramme. Chaque flèche représente un demi-site AGGTCA. L'espacement (N) entre les demi-sites peut varier et produit un niveau supérieur de spécificité de liaison. Le site de liaison des récepteurs nucléaires orphelins lient l'ADN en tant que monomères comprend une région 5' riche en résidus A et T. Les différents modes de liaison à l'ADN des récepteurs nucléaires sont illustrés au bas de la figure, de même que la liste des récepteurs nucléaires orphelins utilisant chacun de ceux-ci. Certains récepteurs peuvent utiliser plus d'un mode de liaison à l'ADN. Rev-ErbA $\alpha$  se lie sous forme de monomère et d'homodimère, et NGFI-B se lie sous forme de monomère et d'hétérodimère avec RXR. La nomenclature des récepteurs nucléaires orphelins a été simplifiée en utilisant des symboles grecs pour montrer l'existence de plusieurs membres à l'intérieur d'un sous-groupe.

récepteur et masque l'ouverture de la cavité où se lie l'hormone [9-11]. Ce mécanisme d'action a été comparé à celui d'une trappe à souris. Une fois en contact avec le module E, le domaine responsable de la fonction activatrice AF-2 forme une interface qui interagit directement avec des protéines (co-facteurs) qui servent de pont entre les récepteurs et l'appareil de transcription [12-15]. La répression de l'expression des gènes cibles se fait également

par l'intermédiaire de protéines co-régulatrices qui sont toutefois libérées lors de la liaison du ligand [16, 17]. Le processus d'activation de l'expression des gènes comprend donc lui aussi deux étapes: la dissociation d'une protéine inhibitrice, suivie d'une interaction avec une protéine activatrice. Pour plusieurs récepteurs nucléaires, la région amino-terminale (module A/B) possède également une fonction activatrice (AF-1) dont l'activité est indé-

## RÉFÉRENCES

33. Saez J, Durand P. Rôle du facteur SF-1 dans le développement des gonades et des surrénales, et dans la stéroïdogenèse. *Med Sci* 1994; 10: 1315-7.
34. Chen WS, Manova K, Weinstein DC, Duncan SA, Plump AS, Prezioso VR, Bachvarova RF, Darnell JE Jr. Disruption of the HNF-4 gene, expressed in visceral endoderm, leads to cell death in embryonic ectoderm and impaired gastrulation of mouse embryos. *Genes Dev* 1994; 8: 2466-77.
35. Lee SL, Wesselschmidt RL, Linette GP, Kanagawa O, Russell JH, Milbrandt J. Unimpaired thymic and peripheral T cell death in mice lacking the nuclear receptor NGFI-B (Nurr77). *Science* 1995; 269: 532-5.
36. Lee SST, Pineau T, Drago J, Lee EJ, Owens JW, Kroetz DL, Fernandez-Salguero PM, Westphal H, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the  $\alpha$  isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 3012-22.
37. Giguère V. Retinoic acid receptors and cellular retinoid binding proteins: complex interplay in retinoid signaling. *Endocrinol Rev* 1994; 15: 61-79.
38. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990; 347: 645-50.
39. Latruffe N. Les peroxysomes et la prolifération cellulaire ou la prise en considération d'un organisme méconnu. *Med Sci* 1992; 8: 239-48.
40. 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.
41. Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkinson WO, Wilson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ). *J Biol Chem* 1995; 270: 12953-6.
42. Kliewer SA, Lenhard JM, Willson TM, Patel I, Morris DC, Lehmann JM. A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and promotes adipocyte differentiation. *Cell* 1995; 83: 813-9.
43. Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM. 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR $\gamma$ . *Cell* 1995; 83: 803-12.

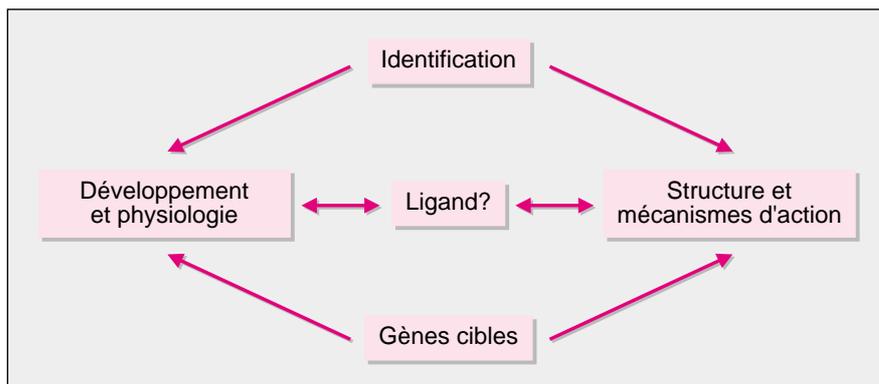


Figure 3. **Diagramme représentant les interrelations entre les différentes étapes d'analyse fonctionnelle des récepteurs nucléaires orphelins.** Après l'identification d'un nouveau membre de la superfamille des récepteurs nucléaires, l'étude de la fonction de ce récepteur potentiel est faite à l'aide des comparaisons de séquences, des études de liaison à l'ADN, de dimérisation et d'activité transcriptionnelle en l'absence de ligand (structure et mécanismes d'action). La technique d'inactivation des gènes peut être utilisée afin de caractériser leur fonction dans un modèle animal (développement et physiologie). Les gènes cibles sont identifiés par l'étude de promoteurs ou par criblage de banques de données. Bien que l'identification du ligand soit le point central du diagramme, il n'est pas indispensable à l'étude de ces facteurs de transcription. On peut même penser que certains membres de la superfamille des récepteurs nucléaires agissent de façon tout à fait indépendante d'un ligand.

pendante de la présence du ligand. Cependant, son mécanisme d'action est encore inconnu.

### Analyse fonctionnelle des récepteurs nucléaires orphelins

A ce jour, les techniques de biologie moléculaire et de génétique ont permis d'identifier 63 récepteurs nucléaires, dont 48 sont considérés comme récepteurs orphelins [18]. Il faut ajouter à cette liste sept autres gènes qui codent pour des protéines qui ne possèdent qu'un seul des deux domaines essentiels au fonctionnement des récepteurs nucléaires, le module C ou le module E. L'identification de nouveaux récepteurs orphelins ne constitue donc que la première étape, et souvent la plus facile, de l'analyse fonctionnelle de ces protéines. L'analyse de la fonction de chaque récepteur nucléaire orphelin peut s'effectuer en plusieurs étapes dépendantes les unes des autres (figure 3). Premièrement, il faut définir la structure et les mécanismes d'action de ces protéines. Cette étape se fait par la comparaison de

séquences primaires à celles d'autres récepteurs, par la mise en évidence du type d'élément de réponse hormonale reconnu par ce récepteur et de son mode de liaison à l'ADN, et par l'étude de ses activités régulatrices qui peuvent s'exercer en l'absence d'un ligand. Deuxièmement, une fois le type d'élément de réponse hormonale défini, il est possible d'identifier des gènes cibles. La nature de ces gènes fournit des indices utiles pouvant mener à l'identification de fonctions physiologiques et de ligands potentiels. Troisièmement, les techniques d'inactivation génique et de production de souris transgéniques permettent d'étudier la fonction de ces récepteurs dans un modèle animal. Finalement, on peut penser que les informations produites à chaque étape de ce plan d'étude mèneront à l'identification de ligands synthétiques ou naturels. Plusieurs récepteurs nucléaires orphelins ont été soumis à ce genre d'analyse systématique durant les cinq dernières années et les progrès ont été rapides. Les prochains paragraphes récapitulent brièvement nos connaissances sur ces récepteurs potentiels.

## Structure et mécanismes d'action

Les récepteurs nucléaires orphelins peuvent être classés en trois sous-groupes selon leur mode de liaison à l'ADN (figure 2C). Le premier groupe représente les récepteurs nucléaires orphelins qui lient l'ADN sous forme de monomères. Ce mode de liaison à l'ADN est spécifique des récepteurs orphelins et implique la reconnaissance d'un élément de réponse hormonale composé d'un seul demi-site AGGTCA précédé en 5' d'une séquence riche en résidus A et T. C'est la séquence riche en résidus A et T qui détermine la spécificité de liaison des récepteurs orphelins monomériques. Pour reconnaître cette région, les récepteurs orphelins monomériques utilisent le sous-domaine carboxy-terminal de liaison à l'ADN. Les différences trouvées dans ce domaine dans chaque récepteur sont responsables de la spécificité de la reconnaissance des éléments de réponse hormonale à des monomères [5, 6]. L'étude du mécanisme d'action des récepteurs monomériques a aussi permis de mettre en évidence un nouveau rôle pour le module A/B. Pour certains récepteurs, tels les ROR, plusieurs isoformes qui diffèrent uniquement dans le module A/B sont produites [19]. Cependant, il a été montré que chaque isoforme, bien que possédant un module C commun, liait l'ADN avec une spécificité parfaite. Des études mutationnelles détaillées ont montré que les modules A/B de chaque isoforme du gène *ROR* forcent le sous-domaine carboxy-terminal commun de liaison à l'ADN à interagir différemment avec la région 5' riche en résidus A et T; cela permet la reconnaissance d'éléments de réponse hormonale distincts pour chaque isoforme [19, 20]. Plusieurs récepteurs nucléaires monomériques influencent de façon constitutive l'expression des gènes. En particulier, les récepteurs de la sous-famille des protéines ROR possèdent une fonction activatrice AF-2 très puissante, activant l'expression des gènes rapporteurs de façon constitutive. Au contraire, les récepteurs de la sous-famille des Rev-ErbA n'ont pas de fonction activatrice AF-2, propriété spécifique de cette sous-famille [21,

22]. Par conséquent, les Rev-ErbA inhibent l'expression des gènes rapporteurs en l'absence de tout ligand exogène. Cependant, les membres des sous-familles ROR et Rev-ErbA reconnaissant les mêmes éléments de réponse hormonale et se faisant concurrence pour la liaison de ces sites, il a été suggéré que ces récepteurs participeraient à un système hormonal dans lequel la réponse finale (activation ou inhibition des gènes cibles) résulterait de la proportion de chaque type de récepteur synthétisé dans une cellule donnée.

Le deuxième groupe de récepteurs orphelins comprend ceux qui lient l'ADN sous forme d'homodimères. La particularité de ces récepteurs, tels HNF-4 et COUP-TF, réside dans le fait qu'ils peuvent lier avec des espacements variés des éléments de réponse hormonale inversés ou répétés en tandem [23, 24]. En revanche, les récepteurs des hormones stéroïdiennes ne lient que des éléments de réponse hormonale inversés et espacés de trois paires de base. Ces récepteurs agissent de façon constitutive et peuvent, soit inhiber, soit activer des gènes rapporteurs.

Le troisième groupe inclut les récepteurs nucléaires orphelins qui ont besoin de former un complexe hétérodimérique avec le récepteur RXR pour lier l'ADN avec une forte affinité. A l'origine, les RXR constituaient eux-mêmes un groupe de récepteurs orphelins qui pouvaient être activés, mais non liés, par l'acide rétinoïque tout *trans* [25]. A la même époque, on montrait que les RXR pouvaient à la fois servir de partenaires hétérodimériques à de nombreux membres de la superfamille des récepteurs nucléaires et fonctionner de manière indépendante en tant que récepteurs de l'isomère *9cis* de l'acide rétinoïque [26]. Les RXR servent de partenaires aux récepteurs de la thyroxine, de l'acide rétinoïque tout *trans* et de la vitamine D [27]. Dans ces complexes, RXR ne peut lier son ligand naturel et agit comme partenaire silencieux, dissociant donc ses activités de récepteur de celles de partenaire hétérodimérique pour lier l'ADN. Cependant, il a été montré que plusieurs récepteurs nucléaires orphelins formant des complexes avec RXR participent à la réponse physiologique aux rétinoïdes

[28]. Dans ces complexes, RXR lie l'acide rétinoïque de forme *9cis* et agit à la fois comme récepteur et comme partenaire hétérodimérique. Il n'est cependant pas exclu que les récepteurs orphelins hétérodimériques puissent répondre à leur propre ligand, comme nous le verrons plus loin.

Les récepteurs nucléaires orphelins ont donc la capacité de régler leurs propres réseaux géniques en liant l'ADN de manière spécifique. En outre, plusieurs récepteurs nucléaires orphelins peuvent lier des éléments de réponse hormonale reconnus par des récepteurs nucléaires classiques ou s'associer à des récepteurs répondant à un ligand reconnu, tel RXR. Ces dernières observations indiquent que, même en l'absence de ligand, les récepteurs nucléaires orphelins peuvent agir comme régulateurs de systèmes hormonaux.

## Gènes cibles

Les récepteurs nucléaires sont de puissants facteurs de transcription et leurs actions peuvent être définies par le type de gènes dont ils régulent la transcription. L'identification de ces gènes cibles permet donc d'établir un premier lien entre le récepteur orphelin et sa fonction physiologique potentielle. Certains récepteurs orphelins, tels SF-1 et HNF-4, ont été, à l'origine, identifiés comme des facteurs de transcription liant des promoteurs spécifiques. SF-1 lie et active plusieurs promoteurs contrôlant l'expression de gènes codant pour les enzymes de la stéroïdogenèse ainsi que le gène codant pour l'hormone antimüllérienne, impliquant ce récepteur dans le contrôle des mécanismes de la différenciation sexuelle (*m/s n° 10, vol. 10, p. 1055*) [29, 30]. De même, HNF-4 reconnaît des éléments de réponse hormonale présents dans plusieurs gènes exprimés de façon spécifique dans le foie, suggérant un rôle important pour ce facteur dans cet organe (*m/s n° 12, vol. 12, p. 1431*) [31]. Pour les autres récepteurs orphelins, une fois que le type de leur site de liaison à l'ADN a été défini, il devient également possible d'identifier des gènes cibles, soit par des méthodes moléculaires, soit simplement par criblage de banques de données informatiques. En utili-

sant cette dernière approche, notre laboratoire a récemment montré qu'un site de liaison pour ROR et Rev-ErbA, présent dans une région régulatrice du proto-oncogène *N-Myc*, était fonctionnel. De fait, la co-expression des gènes *ROR* et/ou *Rev-erbA* peut influencer l'activité oncogénique de *N-Myc* dans l'expérience fondée sur la transformation des fibroblastes de rat en culture primaire par *N-Myc* et l'oncogène *Ras*. Ces résultats suggèrent qu'il pourrait être possible, dans un futur proche, de contrôler l'expression de certains oncogènes dans les cellules tumorales par des agents pharmacologiques dirigés contre ces récepteurs nucléaires orphelins.

## Développement et physiologie

Les approches moléculaires *in vitro*, menant à l'élucidation des mécanismes d'action et à l'identification de gènes cibles des récepteurs nucléaires orphelins, produisent des informations utiles sur les fonctions de ces protéines. En revanche, seules des approches génétiques peuvent révéler les vraies fonctions physiologiques de ces récepteurs chez l'animal. L'utilisation des techniques d'inactivation génique par recombinaison homologue dans les cellules embryonnaires souches permet, dans la plupart des cas, d'assigner aux gènes à l'étude une (souvent la première si le phénotype est létal durant l'embryogenèse) ou plusieurs fonctions. Le premier récepteur nucléaire orphelin dont la fonction a été analysée par la méthode d'inactivation génique par recombinaison homologue est SF-1. Le phénotype spectaculaire associé à cette mutation est l'agénésie complète des glandes surrénales et des gonades, de même que celle du noyau hypothalamique ventromédial (*m/s n° 10, vol. 10, p. 1055*) [32]. En outre, l'hypophyse antérieure ne synthétise pas d'hormone lutéotrope à moins d'être stimulée par l'administration exogène d'un facteur hypothalamique (LHRH) [33]. Ces résultats montrent que le récepteur nucléaire orphelin SF-1 est un facteur déterminant dans la formation des axes hypothalamus-hypophyse-surrénales et gonades. Des études, effectuées par notre équipe

de recherche et en voie de publication, ont récemment montré que le récepteur nucléaire orphelin ERR $\beta$  est essentiel pour la formation du chorion, un tissu extra-embryonnaire impliqué dans la formation du placenta. Par ailleurs, l'inactivation du gène codant pour le facteur HNF-4 a produit un phénotype conduisant à la mort prématurée de l'embryon très tôt durant le développement, apparemment due à un défaut de l'endoderme viscéral où HNF-4 est synthétisé de façon spécifique [34]. Cette observation montre l'importance des études génétiques pour identifier la fonction de ces récepteurs, ce phénotype ne pouvant être prédit par les études moléculaires effectuées avec les gènes du foie. De fait, l'inactivation du gène codant pour HNF-4 n'a pas permis de déterminer le rôle potentiel de ce facteur dans le contrôle de l'expression des gènes du foie, puisque le développement de cet organe ne peut se produire dans ce modèle animal. Enfin, l'inactivation des gènes codant pour certains récepteurs nucléaires orphelins, tels que NGFI-B et PPAR $\alpha$ , n'a pas produit de phénotype apparent [35, 36]. Ces deux récepteurs potentiels font partie de familles composées de plusieurs membres, chacun pouvant exercer des fonctions similaires. Il est donc possible que l'activité des autres membres de ces familles puisse compenser, totalement ou en partie, l'absence de ces facteurs. Il se peut également que les phénotypes associés à l'inactivation de ces gènes ne puissent pas être reconnus aisément dans le contexte artificiel créé par le laboratoire.

## Les ligands

On peut penser que l'activité de plusieurs récepteurs nucléaires orphelins pourrait être réglée par des ligands spécifiques. La disponibilité d'essais de transfection *in vitro* utilisant des vecteurs d'expression pour les récepteurs et des vecteurs rapporteurs contenant un gène cible de ces récepteurs permet le criblage systématique de banques de composés naturels ou synthétiques. Ce système permet de déterminer si ces molécules peuvent activer un récepteur nucléaire orphelin. Les rétinoïdes

ont été les premiers composés identifiés comme ligands des récepteurs nucléaires orphelins (RAR et RXR) [37]. Ces découvertes ont eu une influence majeure sur nos connaissances des effets physiologiques de la vitamine A et ont permis le développement de plusieurs nouveaux agents thérapeutiques qui sont maintenant au stade des essais cliniques pour le traitement de diverses maladies, dont le cancer.

Le second exemple est celui des PPAR. On a initialement décrit le premier membre de cette famille de récepteurs orphelins, PPAR $\alpha$ , comme capable de répondre à une classe de composés synthétiques ayant la propriété d'induire la prolifération des peroxyssomes dans le foie (*m/s n° 3, vol. 9, p. 340*) [38, 39]. Il a été montré ultérieurement que certains acides gras à longues chaînes agissent aussi comme activateurs de ce récepteur, suggérant que le ligand naturel de PPAR $\alpha$  pourrait être impliqué dans le contrôle de la synthèse ou du catabolisme des lipides. Ce ligand n'a pas encore été identifié mais appartient probablement à une nouvelle classe d'hormones intracellulaires. Des ligands naturels et synthétiques d'un autre membre de cette famille, PPAR $\gamma$ , ont cependant été identifiés. PPAR $\gamma$  semble jouer un rôle central dans le contrôle de la différenciation cellulaire des adipocytes (*m/s n° 4, vol. 11, p. 625*) [40]. Grâce à cette observation, on a découvert qu'une certaine classe de molécules, les thiazolidinediones antidiabétiques, agissent comme ligands synthétiques de ce récepteur [41]. Les thiazolidinediones antidiabétiques étant des analogues de prostaglandines, des recherches ont rapidement mené à l'identification d'un dérivé de la prostaglandine J<sub>2</sub> comme ligand naturel de PPAR $\gamma$  (*m/s n° 12, vol. 12, p. 1428*). Ces études ont non seulement montré que l'on peut associer des ligands naturels à une classe de récepteurs nucléaires orphelins, mais également, pour la première fois, que les prostaglandines peuvent agir par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires [42, 43]. En outre, les PPAR forment des complexes hétérodimériques avec les RXR, et ces complexes répondent à certains rétinoïdes, suggérant que l'utilisation

combinée de rétinoïdes et de prosta-  
noïdes pourrait constituer une  
approche possible pour le traitement  
du diabète.

Il se peut finalement que certains  
récepteurs nucléaires orphelins  
n'aient pas de ligands naturels. Ces  
récepteurs (si l'on peut continuer de  
les appeler ainsi) pourraient repré-  
senter une classe de facteurs de trans-  
cription apparentée à celle des récep-  
teurs nucléaires, mais qui auraient  
perdu, ou jamais acquis, la capacité  
d'être modulés par de petites molé-  
cules liposolubles. Comme d'autres  
facteurs de transcription, leurs activi-  
tés transcriptionnelles pourraient  
être modulées par des modifications  
post-traductionnelles, telle que la  
phosphorylation d'acides aminés  
sérines ou tyrosines, en réponse à des  
stimulus provenant de la membrane  
cellulaire. Cependant, ces protéines  
possédant toutes les caractéristiques  
structurales et fonctionnelles des  
récepteurs nucléaires classiques,  
incluant un domaine de liaison à  
l'hormone, il sera sans doute possible  
de développer des agents thérapeu-  
tiques qui pourront moduler l'acti-  
vité transcriptionnelle de ces facteurs  
*via* le module E.

## Perspectives

La superfamille des récepteurs  
nucléaires est en pleine croissance et  
ses limites restent à définir. Les

récepteurs nucléaires orphelins com-  
posent la majeure partie de cette  
superfamille. Il a été montré que les  
récepteurs nucléaires orphelins  
jouent des rôles essentiels dans les  
processus liés au développement  
embryonnaire, l'organogenèse et le  
contrôle de la différenciation cellu-  
laire. Il est aussi probable que l'acti-  
vité de la majorité des récepteurs  
nucléaires orphelins soit réglée par  
des ligands naturels qui restent à  
identifier. L'étude des récepteurs  
nucléaires orphelins offre donc une  
occasion remarquable d'explorer le  
fonctionnement de nouveaux sys-  
tèmes hormonaux et de développer  
de nouvelles approches thérapeu-  
tiques pour le traitement de maladies  
telles que le diabète et le cancer ■

### Remerciements

L'auteur remercie Isabelle Dussault, Josette  
Gallant et Robert Sladek pour leurs critiques  
et leurs conseils pendant la préparation de cet  
article.

### TIRÉS À PART

V. Giguère.

## Summary

**Orphan nuclear receptors:  
essential regulators of early  
development, organogenesis  
and homeostasis**

Nuclear receptors are ligand-  
dependent transcription factors.  
These regulatory proteins control  
complex gene networks involved  
in embryonic development, cellu-  
lar differentiation and homeosta-  
sis. The superfamily of nuclear  
receptors include receptors for ste-  
roid and thyroid hormones as well  
as for the active derivatives of vita-  
min A and D. However, this family  
also includes many members for  
which the ligands have not been  
identified. These proteins, consid-  
ered as putative receptors, are  
therefore referred to as orphan  
receptors. It is anticipated that the  
elucidation of the functions and  
the identification of the ligands  
associated with orphan nuclear  
receptors will not only have a dra-  
matic impact on our knowledge of  
basic biological processes involved  
in development and homeostasis,  
but will also open new avenues of  
research for the development of  
therapeutic compounds for the  
treatment of various diseases such  
as diabetes and certain types of  
cancer.

GROUPE DE RÉFLEXION SUR LA RECHERCHE CARDIOVASCULAIRE

## CONGRÈS BIOLOGIE ET PATHOLOGIE DU CŒUR ET DES VAISSEAUX

*Sous le parrainage de l'Inserm et de la Société Française de Cardiologie*

**ARCACHON 29 et 30 AVRIL 1997**

Comité local d'organisation  
(secrétariat scientifique résumés)

**Alain-Pierre GADEAU**

Inserm U. 441, avenue du Haut-Lévêque  
33600 Pessac, France.  
Tél. : 05.57.89.19.79  
Fax : 05.56.36.89.79

E-mail : [alain.gadeau@bordeaux.inserm.fr](mailto:alain.gadeau@bordeaux.inserm.fr)  
<http://www.bordeaux.inserm.fr/grrc.html>

**Administration**

**(inscriptions et réservations hôtelières)**

Palais des Congrès  
Boulevard Veyrier-Montagnères,  
33120 Arcachon, France.

Tél. : 05.56.22.47.22

Fax : 05.56.22.55.55