

**Biologie
cellulaire
et moléculaire****Régulation transcriptionnelle
par le cholestérol : découverte
de la protéine sensible, SCAP**

Tous les biologistes savent le prodigieux travail réalisé par les deux compères de génie, fidèles en amitié autant qu'à leur axe de recherche : Joseph L. Goldstein et Michael S. Brown, lauréats du prix Nobel de médecine en 1985. Cette recherche, ces auteurs et leur prix sont d'ailleurs particulièrement chers au cœur de *médecine/sciences* qui rendit compte pour la première fois, l'année de son lancement, de cette distinction dans une nouvelle appellation « l'hypercholestérolémie familiale, de la maladie aux gènes... » (*m/s* n° 7, vol. 1, p. 388). Brown et Goldstein ont été loin de s'endormir sur leurs lauriers au retour de Stockholm, et les progrès réalisés par cette équipe de Dallas (TX, USA) ont continué d'être réguliers, complétant l'image d'une œuvre exceptionnelle par sa qualité et par sa cohérence (*m/s* n° 6/7, vol. 10, p. 746). Notamment, c'est cette équipe qui a découvert les deux facteurs de transcription SREBP-1 et SREBP-2 dont l'activité sur des gènes codant pour des protéines du métabolisme du cholestérol est elle-même contrôlée par les stérols (*m/s* n° 4, vol. 11, p. 642). Ces deux protéines semblent fonctionnellement redondantes et pourraient également intervenir dans le contrôle de la différenciation adipocytaire ; SREBP-1 a d'ailleurs été caractérisé sous le nom d'ADD-1 comme un gène activé lors de cette différenciation (*m/s* n° 4, vol. 11, p. 625). Beaucoup des résultats obtenus sur les mécanismes d'activation de ces protéines l'ont été sur SREBP-2, mais tout laisse à penser que ces mécanismes sont identiques pour SREBP-1. Comme le montre la figure 1, SREBP est composé de trois

parties : un segment amino-terminal d'environ 500 acides aminés, en position cytoplasmique, qui est un facteur de transcription appartenant à la famille bHLH-LZ (*basic helix loop helix-leucine zipper*). La deuxième partie, d'environ 75 résidus, comprend deux segments transmembranaires situés de part et d'autre d'une petite boucle hydrophile de 31 acides aminés qui se trouve en position endoluminale, dans le réticulum endoplasmique. Enfin, également en position cytoplasmique, l'extrémité carboxy-terminale d'environ 500 acides aminés joue probablement un rôle régulateur. La partie transcriptionnellement active de SREBP, amino-terminale, est libérée par une protéolyse en deux temps. Tout d'abord, une protéase inhibée par les stérols clive le site 1, dans la boucle endoluminale. Ensuite, une autre protéase d'activité constitutive clive le site 2, dans le premier segment transmembranaire. Ainsi libérée, la partie amino-terminale se comporte comme un activateur transcriptionnel qui se fixe à des éléments d'ADN de deux types, les SRE (*sterol response elements*) et des boîtes E de type CACGTG. Parmi les gènes ainsi activés après maturation protéolytique de SREBP, on trouve ceux codant pour le récepteur des LDL, la farnésyl diphosphate synthase, l'HMG-CoA synthase et l'HMG-CoA réductase. Ces protéines sont nécessaires à l'accumulation intracellulaire de stérols exogènes (par l'intermédiaire du récepteur des LDL) ou endogènes (par l'intermédiaire des enzymes de la synthèse du cholestérol). En présence d'un excès de stérols, la protéase clivant le site 1 est inhibée, SREBP reste fixée à la membrane du

réticulum endoplasmique et les gènes de l'accumulation de cholestérol sont inhibés. Cependant, on connaît des lignées cellulaires qui sont résistantes à cet effet inhibiteur des stérols. Normalement, en effet, des dérivés hydrogénés tels que le 25-hydroxycholestérol (25-HC) inhibent la synthèse de cholestérol sans pouvoir le remplacer, et entraînent donc la mort des cellules sensibles, mais non pas des cellules résistantes. Ce phénotype de résistance au 25-HC peut être entraîné par plusieurs types de mutations. Dans l'une d'entre elles, SREBP est présent et normal, mais il est en permanence clivé au niveau du site 1, aboutissant à l'activation des gènes sensibles à SREBP même en présence de 25-HC. Cette mutation semble dominante en ce qu'un hybride entre une cellule normale et une cellule mutante a un phénotype de résistance partielle au 25-HC. C'est partant de cette observation que Hua *et al*, du laboratoire de Brown et Goldstein, ont conçu un système de criblage par expression destiné à isoler le gène muté [1]. Ces auteurs ont établi une banque d'expression des ADNc provenant de cellules mutantes et ont transfecté des cellules sensibles avec 100 *pools* de 1 000 clones. Ils ont observé que 2 de ces *pools* permettaient de conférer le phénotype de résistance au 25-HC. Dès lors, les 1 000 espèces d'ADNc de l'un de ces *pools* ont été divisées en 10 x 100, puis 10 x 10, et enfin, 1 clone capable à lui tout seul de rendre des cellules sensibles résistantes à l'effet toxique du 25-HC a été isolé et séquencé. La séquence nucléotidique de l'ADNc permet de prédire qu'il code pour une protéine dénommée SCAP (*SREBP cleavage*

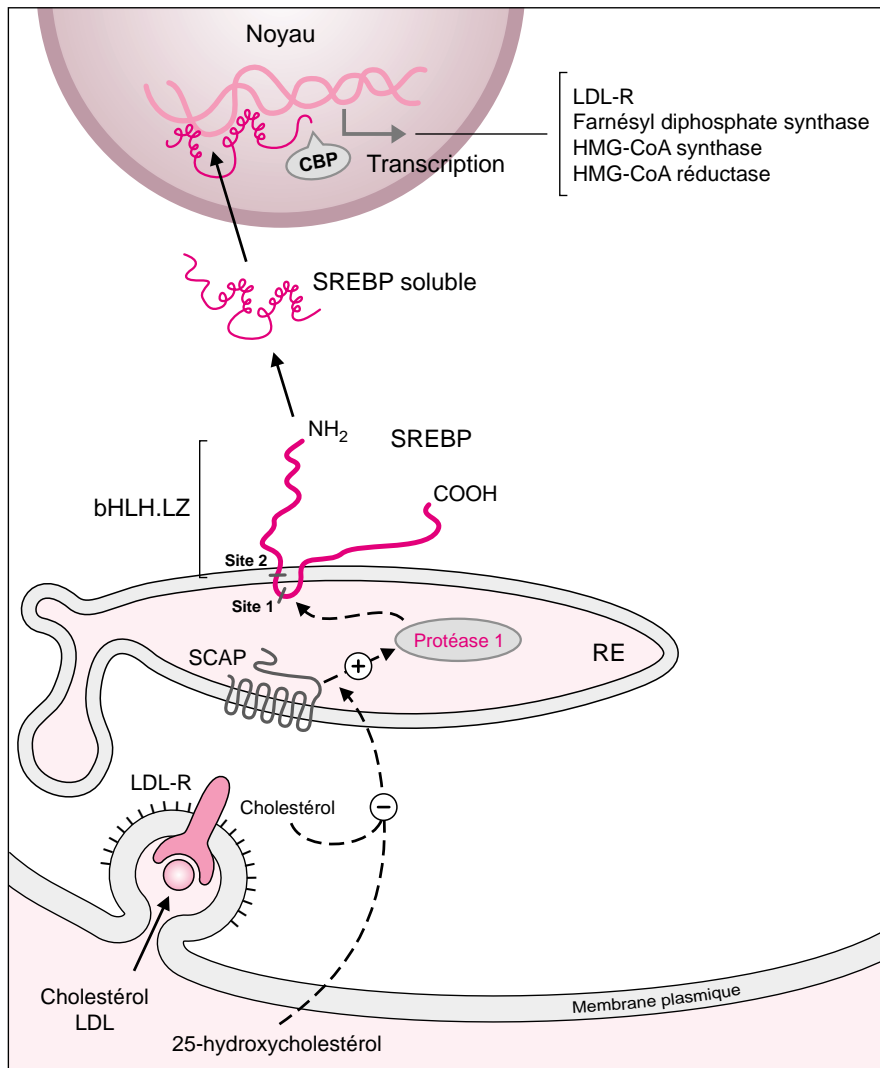


Figure 1. **Schéma de la régulation transcriptionnelle par les stérols.** Le cholestérol pénètre dans la cellule complexé aux LDL (low density lipoproteins) qui se fixent aux récepteurs des LDL (LDL-R) et sont internalisés dans la cellule par endocytose débutant par la formation des puits ou invaginations mantelés (coated pits). Le cholestérol intracellulaire ou des dérivés non métabolisables tels que le 25-hydroxycholestérol agirait alors sur une protéine de la membrane du réticulum endoplasmique, la SCAP (SREBP cleavage-activating protein) dont il diminue le potentiel d'activation d'une protéase, probablement localisée dans le réticulum endoplasmique (RE). Cette protéase clive le site 1, situé au niveau de la boucle endo-luminale de la protéine SREBP. Après clivage du site 2, la partie amino-terminale, un facteur de transcription de type bHLH-LZ, va dans le noyau où elle se fixe à ses éléments d'ADN cible dénommés SRE (sterol-response elements). Ainsi positionné et en interaction avec le co-activateur CBP (CREB-binding protein), le facteur SREBP activé stimule la transcription d'une série de gènes, celui du récepteur des LDL (LDL-R) et ceux d'enzymes de la synthèse endogène du cholestérol telles que la farnésyl diphosphate synthase, l'HMG-CoA synthase et l'HMG-CoA réductase. Ainsi, ces gènes sont-ils activement transcrits dans des conditions de carence en stérols, puisque SREBP subit alors, continuellement, sa maturation protéolytique. En revanche, la protéolyse activatrice est inhibée par les stérols, inhibant les gènes codant pour des protéines qui facilitent l'endocytose du cholestérol exogène ou la synthèse de cholestérol endogène.

activating protein) de 1276 acides aminés, qui peut être divisée en deux régions. Une région aminotermine semble comporter 10 segments transmembranaires et présente des similitudes de séquence et de structure avec l'enzyme HMG-CoA réductase. La comparaison entre la séquence de SCAP de cellules mutantes et de cellules normales montre une mutation changeant un acide aspartique 443 en une asparagine. Des expériences de transfection de cellules à l'aide de vecteurs d'expression pour SCAP normale ou mutante montrent que la protéine mutante et la protéine normale sont toutes deux capables d'activer la protéase clivant le site 1, avec une efficacité environ 10 fois plus grande de la protéine mutante que de la protéine normale. Probablement du fait de cette activation plus efficace, la protéine mutante surmonte l'effet inhibiteur des stérols sur le clivage du site 1, ce qui explique l'insensibilité des cellules mutantes à ces agents. A ce jour, on ne peut que faire des spéculations sur le mode d'action de SCAP. Il ne semble pas s'agir de la protéase sensible aux stérols elle-même car il n'existe aucun motif protéique évoquant une activité protéasique. En revanche, la similitude entre la partie amino-terminale de SCAP et l'HMG-CoA réductase indique que SCAP pourrait être la protéine sensible aux stérols. En effet, l'activité enzymatique de l'HMG-CoA réductase est elle-même modulée par les stérols. SCAP apparaît être une protéine liée à la membrane du réticulum endoplasmique; elle pourrait, en fonction de la présence de stérols, activer plus ou moins une protéase encore inconnue, probablement présente dans le réticulum endoplasmique, active sur le site 1 de clivage de SREBP. Parallèlement à ces travaux spectaculaires, le groupe de Robert Tjian (Berkeley, CA, USA) contribue lui aussi à l'amélioration de notre compréhension du mode d'action de SREBP; ces auteurs montrent en effet que la partie transcriptionnellement active de SREBP fixe le co-activateur CBP et que celui-ci est indispensable à l'activation de la transcription par SREBP [2]. A noter que ces interactions physiques et fonctionnelles entre SREBP

et CBP ne semblent pas être la conséquence de l'effet de mode que nous signalions et craignons récemment dans *médecine/sciences (m/s n° 10, vol. 12, p. 1113)*. En effet, c'est sans aucune idée préconçue que Oliver *et al.* ont recherché des protéines se fixant à SREBP... et sont tombés sur CBP, et son frère jumeau p300.

En conclusion, notre couverture du prix Nobel 1985 insistait sur le chemin parcouru de l'hypercholestérolémie familiale au gène. Aujourd'hui, 11 ans après, c'est du cholestérol et des signaux qu'il engendre aux gènes que l'on sait aller, et cette recherche thérapeutiques majeures de cette dernière décennie dans le traitement

des hypercholestérolémies. Il est probable que ce quart de siècle de recherches menées par deux scientifiques d'exception restera dans l'histoire des sciences comme l'une des plus belles illustrations de ce à quoi peut aboutir en ce domaine la conjonction de l'idéal, de la cohérence et de l'excellence; et l'histoire n'est pas terminée! ■

RÉFÉRENCES

1. Hua X, Nohturfft A, Goldstein JL, Brown MS. Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage-activating protein. *Cell* 1996; 87: 415-26.

2. Oliver JD, Andresen M, Hansen SK, Zhou S, Tjian R. SREBP transcriptional activity mediated through an interaction with the activator CREB-binding protein. *Genes Dev* 1996; 10: 2903-11.

Axel Kahn

Inserm U. 129, Unité de recherche en physiologie et pathologie moléculaires, ICGM, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

TIRÉS À PART

A. Kahn.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Des protéines G aux MAP kinases en passant par la phosphoinositide 3-kinase- γ .** Une équipe internationale réunissant des chercheurs allemands, italiens et américains vient de mettre en évidence, par une série d'expériences élégantes et claires, une nouvelle voie de transmission du signal dans la cellule. En bref, l'activation de grandes protéines G trimériques couplées à des récepteurs serpentes (c'est-à-dire à 7 passages transmembranaires) induit la dissociation entre la sous-unité α -GTP et le dimère- $\beta\gamma$ [1]. Ce dernier recrute à la membrane une isoforme particulière de la phosphoinositide 3-kinase (ou phosphatidylinositol 3-kinase), la PI3K γ . Contrairement aux autres isoformes, α et β , la PI3K γ est composée d'une sous-unité catalytique non couplée à

une sous-unité régulatrice p85. Cette PI3K γ activerait alors des tyrosine kinases intracellulaires, par un mécanisme inconnu mais exigeant l'intégrité de son activité de phosphorylation des lipides. L'activation d'une tyrosine kinase est ensuite relayée par un adaptateur, la molécule Shc, vers la cascade bien connue Grb2-Sos-Ras-Raf-MEK-MAPK [2]. De façon cohérente avec ce schéma de cascades, l'activation des MAP kinases par le dimère $\beta\gamma$ est inhibé par la wortmannine, un inhibiteur des PI3K, ainsi que par des mutants *trans*-dominants négatifs de Shc, de Ras, et de Raf.

[1. Lopez-Illasaca M, *et al. Science* 1997; 275: 394-7.]

[2. Chardin P. *Med Sci* 1994; 10: 657-64.]

■■■■ **Signal, phosphorylation et stabilisation de c-Jun.** L'une des voies de transmission des signaux inflammatoires et de prolifération passe par l'activation d'une MAP kinase, la JNK (*Jun aminoterminal kinase*) qui active la molécule c-Jun, un partenaire de Fos dans le complexe d'activation transcriptionnel AP1. Un laboratoire de l'EMBL (Heidelberg, Allemagne) démontre que l'activation de c-Jun procède de deux mécanismes: la phosphorylation elle-même, et une réduction de l'ubiquitinylation de cette molécule lorsqu'elle est phosphorylée [1]. Ce phénomène diminue la dégradation protéolytique de c-Jun, puisque l'addition de chaînes de polyubiquitine aux protéines est un signal les destinant à la dégradation.

[1. Musti AM, *et al. Science* 1997; 275: 400-2.]