

■■■■ **Le CNTF est le double de la leptine dans la lutte contre l'obésité!**

Le facteur neurotrophique CNTF (*ciliary neurotrophic factor*), à lui seul, suffit à corriger l'obésité des souris *ob/ob* déficientes en leptine, et des souris *db/db* déficientes en récepteurs de la leptine [1]! On était déjà frappé par la communauté des propriétés structurales et biochimiques des récepteurs de ces cytokines [2], impliquant notamment la formation de complexes protéiques multimériques, le recrutement de tyrosine-kinases de la famille JAK, et la phosphorylation des facteurs transcriptionnels STAT (*m/s n° 1, vol. 13, p. 99*). Aujourd'hui, c'est dans une mission commune de lutte contre l'obésité que le CNTF et la leptine se rejoignent, mettant en jeu un mécanisme moléculaire identique [1]. Ainsi, *in vitro*, dans des cellules nerveuses en culture co-exprimant le récepteur (endogène) du CNTF et le récepteur (recombinant) de la leptine, l'activation propre de ces récepteurs conduit à un profil identique de mobilisation des protéines STAT1 et STAT3. Plus inattendu, le CNTF réduit, de façon spécifique et durable, le poids corporel et la prise alimentaire des souris *ob/ob* et *db/db*, et des souris rendues obèses par un régime hautement calorique. En outre, le facteur neurotrophique diminue l'hyperinsulinémie chez les souris *ob/ob* et *db/db*, et réduit la glycémie chez ces dernières. Aucun effet toxique ni comportemental du CNTF n'a été détecté, ni même une aversion au goût. Des transcrits du récepteur CNTFR α ont été mis en évidence dans les centres hypothalamiques de la satiété, en accord avec l'effet stimulateur du CNTF exogène sur la fonction hypothalamique, évaluée par l'induction d'un gène marqueur de l'activation cellulaire. Ainsi, le CNTF et la leptine, par un mécanisme d'action identique, semblent donc « partager » la même activité biologique dans le contrôle de l'homéostasie adipocytaire. L'obésité chez l'homme étant dans certains cas le résultat d'une

résistance des tissus à la leptine, une nouvelle voie thérapeutique utilisant le CNTF pourrait avoir un avenir prometteur pour traiter ces formes pathologiques. A l'inverse, la leptine, à l'image du CNTF, aurait-elle un rôle à jouer dans la survie et la différenciation neuronales?

[1. Gloaguen I, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 6456-61.]

[2. Guerre-Millo M. *Med Sci* 1996; 12: 386-7.]

■■■■ **Dérèglement du neuropeptide NPY central dans l'obésité.**

Le neuropeptide Y (NPY) ubiquitaire, déjà connu pour son action orexigène puissante, joue un rôle essentiel dans le contrôle du métabolisme énergétique et de la fonction digestive. Il constitue un maillon important de la chaîne des événements biochimiques conduisant à l'obésité. Chez le rat, une obésité peut apparaître « spontanément » dans une population génétiquement homogène dès qu'un régime riche en graisses et hautement calorique (désigné HE *pour high energy*) est proposé [1]. Soumis à ce régime, même s'ils mangent tous autant, les rats prédisposés à l'obésité (désignés DIO pour *diet-induced obesity*), comparés à leurs frères (désignés DR pour *diet resistant*), ont une fonction métabolique stimulée: augmentation de l'oxydation des glucides aux dépens des lipides, de l'activité lipogénique et du stockage des graisses; ils développent une hyperinsulinémie et deviennent obèses. En régime normal, en revanche, le poids et le métabolisme énergétique des rats DIO et DR restent comparables. Caractéristique mise à profit pour distinguer les rats DIO des rats DR avant l'apparition de l'obésité, l'excrétion urinaire journalière de noradrénaline est augmentée chez les rats DIO. Ces rats constituent donc un modèle d'étude pour identifier les facteurs de prédisposition à l'obésité et il a été exploité récemment par une équipe du New Jersey. Les auteurs montrent que le dérèglement du système NPYergique

pourrait jouer un rôle déterminant dans l'apparition de l'obésité: (1) une surexpression des ARNm du NPY a été décelée par hybridation *in situ* dans le cerveau des rats DIO en régime normal, précisément au niveau du noyau arqué hypothalamique contenant les corps cellulaires des neurones NPYergiques; (2) ces messagers augmentent chez les rats DR après un jeûne de 48 heures ou une restriction alimentaire de 5 jours, mais non chez les rats DIO qui les surexpriment en permanence; (3) la dopamine endogène, présumée exercer un effet tonique inhibiteur sur la synthèse du NPY, est en quantité supérieure chez les rats DIO, la demi-vie prolongée et le *turnover* plus faible (néanmoins, la synthèse du messenger NPY semble lui être insensible chez les rats DIO); (4) soumis à un régime HE de 2 semaines, les rats DIO présentent un gain de poids supérieur aux rats DR, une augmentation du tissu adipeux et une hyperinsulinémie. Cette hyperinsulinémie, normalement inhibitrice, n'a aucune influence sur les ARNm NPY qui restent toujours en quantité supérieure à ceux des rats DR. Les rats DIO ont donc une insensibilité totale de leur système NPYergique central à la restriction alimentaire et à l'hyperinsulinémie. Lorsqu'ils passent d'un régime normal à un régime hypercalorique et gras, cette dérégulation devient un facteur critique de prédisposition à l'obésité.

[1. Levin BE, Dunn-Meynell AA. *Am J Physiol* 1997; 272: R1365-70.]

■■■■ **Rôle du neuropeptide NPY central dans la sécrétion biliaire.**

La régulation de l'appétit et du métabolisme ne sont pas les seules actions du NPY; par son action au niveau du système nerveux central, la sécrétion biliaire serait elle aussi sous l'influence de ce neuropeptide, un médiateur essentiel du système nerveux autonome. Les sites nerveux centraux impliqués dans sa fonction stimulatrice de la sécrétion biliaire

viennent d'être identifiés par une équipe japonaise [1]. Mise en évidence par micro-injection du NPY dans le cerveau de rat, l'action centrale du NPY sur la sécrétion biliaire se manifesterait par activation du complexe vagal dorsal (DVC pour *dorsal vagal complex*) constitué du noyau moteur dorsal du nerf pneumogastrique et du tractus solitaire, deux sites déjà impliqués dans le contrôle des fonctions gastro-intestinales par le système nerveux autonome. Vingt minutes après la micro-injection de NPY dans le DVC gauche, on observe une augmentation durable de la sécrétion basale de bile. Le NPY ne modifie pas la sécrétion d'acides biliaires, de phospholipides et du cholestérol mais, en revanche, augmente fortement la sécrétion de bicarbonate. La vagotomie cérébrale gauche, ou de la branche hépatique, abolit totalement la réponse sécrétrice biliaire induite par le NPY, sans altérer la sécrétion biliaire basale. Ces résultats indiquent donc que le NPY central exerce un effet puissant et durable sur la sécrétion biliaire par stimulation du DVC, mettant probablement en jeu des neurones préganglionnaires participant à l'innervation vagale du foie. Ce site d'action du NPY est tout à fait compatible avec la localisation des fibres NPYergiques et des sites de liaison du NPY dans le DVC. Si on a identifié cinq différents sous-types de récepteurs du NPY par des études pharmacologiques et le clonage de l'ADNc de certains d'entre eux, le(s) sous-type(s) de récepteurs du NPY impliqué(s) dans l'action centrale du peptide sur la fonction hépatique reste(nt) inconnu(s). Néanmoins, cette étude constitue une illustration convaincante de l'implication d'un site cérébral spécifique d'un peptide susceptible de régler une fonction hépatique

[1. Yoneda M, *et al. Gastroenterology* 1997; 112: 1673-80.]

■■■ **La kinésine: l'agent secret de la sécrétion d'insuline!** Emprisonnée

dans des granules, l'insuline doit être véhiculée jusqu'à la surface de la cellule β pancréatique pour être libérée par exocytose. Si les mécanismes impliqués dans ce processus sont mal connus, la mise en jeu des microtubules du cytosquelette est d'ores et déjà démontrée. Élément nouveau apporté par une étude américaine, la fonction motrice dirigeant les granules de sécrétion est assurée par la kinésine, une ATPase associée aux microtubules, rappelant ainsi précisément le mécanisme de sécrétion propre à la cellule nerveuse [1]. En effet, dans ce type cellulaire, la kinésine, protéine de 400 kDa constituée de deux chaînes lourdes portant l'activité ATPasique, et de deux chaînes légères, sert de moteur pour le transport des vésicules synaptiques vers les terminaisons présynaptiques [2]. Après clonage de l'ADNc à partir de cellules β pancréatiques, les auteurs rapportent que la protéine pancréatique murine présente 71 % d'analogie avec la protéine nerveuse [1]. C'est une stratégie utilisant des oligonucléotides antisens de la kinésine qui a permis de mettre en évidence le rôle essentiel de cette protéine dans la sécrétion d'insuline: le traitement de cellules β pancréatiques en culture primaire avec les oligonucléotides antisens (2 mM), conduit, après 40 heures, à une réduction de 40 % à 50 % de la kinésine intracellulaire, les oligonucléotides témoins (sens ou en sens inverse) n'ayant aucun effet. Alors que le contenu insulinaire, la viabilité, et la morphologie cellulaires restent intactes, on enregistre une forte inhibition de la sécrétion d'insuline. Après trois jours de traitement, on observe une inhibition progressive de la sécrétion d'insuline qui peut atteindre 50 % en conditions basales, et 70 % en milieu glucosé. Pour la première fois est démontré le rôle important de la kinésine dans une fonction sécrétrice d'un type cellulaire non neuronal, tel que la cellule β pancréatique. La kinésine fonctionnerait comme le responsable du transport des vésicules de sécrétion le long des microtubules, du centre

de la cellule vers la surface. Il est fort probable que cette protéine soit importante dans d'autres types cellulaires endocrines. L'avenir nous le dira!

[1. Meng YK, *et al. Endocrinology* 1997; 138: 1979-87.]
[2. Filliatreau G. *Med Sci* 1988; 4: 373-7.]

■■■ **Prévention du diabète auto-immun par administration orale d'insuline conjuguée à la sous-unité B de la toxine cholérique (CTB).** L'induction d'une tolérance par voie muqueuse est une stratégie attrayante dans la prise en charge ou la prévention des maladies auto-immunes. L'administration orale d'un autoantigène ou d'un allergène est capable de ralentir ou de prévenir la survenue de maladies auto-immunes expérimentales ou des maladies allergiques (*m/s n° 1, vol. 13, p. 114*). Toutefois, cette approche nécessite des doses importantes d'antigènes et nécessite des administrations répétées. De plus, la tolérance orale est moins efficace dans le cas où le système immunitaire est déjà sensibilisé avec présence de lymphocytes autoréactifs, ce qui est le cas chez l'homme présentant une maladie auto-immune. Dans le cas du diabète insulino-dépendant qui correspond à une destruction d'origine auto-immune des cellules B pancréatiques, l'insuline est un autoantigène spécifique. Il est possible, grâce à l'existence d'un modèle animal de diabète spontané, la souris NOD (*nonobese diabetic*), d'étudier les mécanismes physiopathologiques de la maladie et d'évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Alors qu'il était précédemment établi que l'administration orale d'insuline à raison de 1 mg par semaine était capable de ralentir l'apparition du diabète de la souris NOD [1], une équipe dirigée par Charles Thivolet (Hôpital Edouard-Herriot, et Inserm U. 149, Lyon) a récemment observé [2] que l'administration orale à 8 semaines

d'âge d'une seule dose de 2 à 20 µg d'insuline conjuguée à la sous-unité B de la toxine cholérique (CTB) avait une activité protectrice. Ces auteurs ont aussi pu déterminer que cet effet s'exerçait par l'intermédiaire de cellules T protectrices qui migrent de façon sélective dans les structures lymphoïdes à proximité du pancréas et qui sont capables de transférer cette protection. Ces résultats pourraient avoir des conséquences sur le développement des stratégies de prévention du diabète insulino-dépendant.

[1. Zhang ZJ, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10252-6.]

[2. Bergerot I, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 97: 4610-4.]

■■■■ **Nutrition, métabolisme et longévité: la voie du ver.** Nous avons déjà, dans ces colonnes, rendu compte du phénotype *dauer* (maintien au stade larvaire) du nématode *Caenorhabditis elegans*. En réponse à des situations de surpopulation et de restriction alimentaire, *C. elegans* reçoit le signal d'une phéromone qui induit des modifications morphologiques et métaboliques associées à l'entrée en quiescence. Après induction du programme *dauer*, la cuticule de la larve s'épaissit, du tissu gras s'accumule et le nématode survit avec une activité extrêmement réduite pendant plus de deux mois, alors que sa longévité normale est de l'ordre de 14 jours. Un grand nombre de gènes impliqués dans ce phénotype *dauer* ont été identifiés et commencent à être caractérisés. Le gène *daf-2* est ainsi le siège de mutations qui, selon les cas, peuvent empêcher l'induction du programme *dauer* ou bien l'induire de manière inappropriée. D'autres mutations ont des effets plus minimes et entraînent une augmentation de deux à trois fois de la longévité sans induire l'apparition du phénotype *dauer* (*m/s* n° 11, vol. 12, p. 1261). L'équipe de Gary Ruvkun (Boston, MA, USA) [1] vient d'isoler le gène *daf-2*. Pour ce faire, les auteurs ont caractérisé un *contig* de

YAC contenant le locus *daf-2*. Ils ont engendré à partir de ce *contig* toute une série de cosmides, eux-mêmes subdivisés en clones de phages M13 qui ont été séquencés. Plusieurs séquences présentant une analogie nette avec celles des récepteurs à fonction de tyrosine kinase, notamment du récepteur de l'insuline, ont été isolés. Ces clones appartiennent à un gène porteur de plusieurs mutations observées chez les vers au phénotype *daf*-mutant. Le gène *daf-2* a environ 36 % de similitude de séquence avec ceux du récepteur de l'insuline et du facteur de croissance IGF-I. Cette similitude monte à 48-49 % dans le domaine à activité de tyrosine kinase. Chose tout à fait remarquable, l'une des mutations détectées chez un mutant *daf-2* semble homologue de celle observée à l'état hétérozygote chez un malade diabétique au niveau du gène du récepteur de l'insuline. Les relations entre le contrôle du phénotype *dauer* et de la longévité chez *C. elegans*, et la transmission d'un signal du type de celui produit chez les vertébrés par l'insuline ou IGF-I sont renforcées par les analogies entre le produit du gène *age-1* et la phosphatidylinositol-3 kinase. Les mutations des gènes *daf-2* et *age-1* (également appelé *daf-23*) entraînent des phénotypes extrêmement voisins. Kimura *et al.* établissent une relation entre le rôle de cette voie de transmission du signal chez *C. elegans* et le contrôle de la sénescence, et l'observation déjà ancienne qu'une restriction alimentaire est capable de prolonger très significativement la longévité de souris et de rats. Les auteurs supposent que dans l'un et l'autre cas, c'est-à-dire la restriction alimentaire des rongeurs et les mutations des gènes *daf-2* ou *age-1*, le signal est diminué, aboutissant à une augmentation de la longévité. En revanche, en présence d'une nourriture abondante, le signal est augmenté, du fait de l'augmentation de la sécrétion d'insuline chez les vertébrés et par un mécanisme encore inconnu chez *C. elegans*, entraînant plutôt un comportement d'hyperactivité et de manœuvres de reproduc-

tion... En veine de spéculation, les auteurs proposent même qu'existe une relation entre leur observation et la fréquence des gènes de susceptibilité au diabète. En effet, une comparaison est faite entre les mutations *daf*, sélectionnées au cours de l'évolution car elles permettent de diversifier le comportement des nématodes en cas de carence alimentaire, et les mutations diabétiques favorisant la résistance des populations humaines à la famine... Sans suivre obligatoirement l'équipe de Gary Ruvkun dans toutes ses hypothèses, il faut reconnaître que ses résultats renforcent évidemment le lien entre la nutrition, le métabolisme et la longévité, probablement tout au long de l'évolution. L'ancêtre commun aux mammifères et au nématode *C. elegans* a probablement vécu il y a 800 à 900 millions d'années. La nature étant par essence très parcimonieuse, il se pourrait que l'évolution n'eût fait que réutiliser un système ancestral impliqué dans le déclenchement de mécanismes de survie en cas de famine pour jouer le rôle que l'on sait de contrôle continu du métabolisme des vertébrés en fonction de l'alimentation.

[1. Kimura KD, *et al. Science* 1997; 277: 942-6.]

