



## Le mécanisme d'action de l'hepcidine déchiffré

Gaël Nicolas, Sophie Vaulont

> L'homéostasie du fer dans l'organisme repose sur un contrôle strict de l'absorption du fer au niveau des entérocytes matures de la villosité duodénale. Ce processus met en jeu un grand nombre de protéines dont des transporteurs de fer capables de faire traverser le métal du côté apical (la protéine DMT1, *divalent metal transporter*) et du côté basolatéral de la cellule (la ferroportine) (*Figure 1*) (pour revue, voir [1]). L'hepcidine est une petite protéine synthétisée par l'hépatocyte sous la forme d'un précurseur de 84 acides aminés. La maturation de l'hepcidine après clivage du précurseur conduit à deux formes moléculaires de 25 et 20 acides aminés. Ces formes matures, correspondant à la partie carboxy-terminale, ont été isolées et purifiées dans le sérum et dans l'urine. Elles possèdent huit cystéines formant quatre ponts disulfures qui leur confèrent une structure compacte unique. D'abord identifiée pour son activité antimicrobienne, l'hepcidine s'est révélée être un peptide hormonal clé du métabolisme du fer capable d'inhiber l'absorption intestinale du fer alimentaire. Un régime riche en fer a pour conséquence d'augmenter la production d'hepcidine afin de diminuer l'absorption de ce fer en excès [2, 3]. Dans les situations d'hémochromatose sévères (lorsque par exemple l'hepcidine est mutée, que ce soit chez l'homme ou chez la souris), cette régulation de l'absorption intestinale de fer est perdue, ce qui provoque une accumulation de fer très importante dans les organes [2, 4]. À l'inverse, une surexpression d'hepcidine crée un blocage de l'absorption de fer, ce qui entraîne une

carence en fer pouvant aboutir à une anémie [5]. Si l'on connaît bien maintenant le rôle que joue l'hepcidine dans le contrôle de l'homéostasie du fer, on ignorait encore tout de son mode d'action pour inhiber l'absorption du fer, et surtout sur quelle cible moléculaire elle était capable d'agir. L'exporteur de fer évoqué ci-dessus, la ferroportine, protéine transmembranaire présente dans la membrane basolatérale des entérocytes, semblait être une cible rêvée. C'est effectivement ce que vient de démontrer le groupe de Jerry Kaplan (Université d'Utah, USA) en collaboration avec le groupe de Tomas Ganz (Université de Californie, USA) dans une étude publiée dans *Science* [6]. Les auteurs ont utilisé un modèle cellulaire (cellules humaines HEK293) dans lequel la ferroportine fusionnée à la GFP (*green fluorescent protein*), la ferro-GFP, est exprimée de manière inductible. En présence d'inducteur, la ferro-GFP produite se localise dans la membrane et provoque, lorsque les cellules sont incubées en présence de fer, une diminution de la quantité de fer intracellulaire par augmentation de son export. Cela confirme la fonction d'extrusion du fer intracellulaire de la ferro-GFP dans ce modèle. L'ajout d'hepcidine purifiée dans le milieu de culture induit une internalisation de la ferro-GFP, associée à une augmentation du fer intracellulaire. Cette action d'internalisation est rapide (2 à 3 heures) et s'observe pour des concentrations physiologiques d'hepcidine. De plus, cet effet est réversible car la ferro-GFP retrouve une localisation membranaire lorsque l'hepcidine est retirée du milieu. La même observation d'internalisation

G. Nicolas: Inserm U.409, Faculté de Médecine Xavier Bichat, 16, rue Henri Huchard, BP 416, 75870 Paris Cedex, France.

[nicolas@bichat.inserm.fr](mailto:nicolas@bichat.inserm.fr)

S. Vaulont: Inserm U.567, Institut Cochin, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris Cedex, France.

[vaulont@cochin.inserm.fr](mailto:vaulont@cochin.inserm.fr)

de la ferro-GFP est reproduite avec une hepcidine de 25 acides aminés synthétisée *in vitro* mais, de façon intéressante, pas avec la forme la plus courte de 20 acides aminés. Les auteurs montrent par des expériences d'immunomarquage que la détection de ferro-GFP est diminuée en présence d'hepcidine et suggèrent sa dégradation *via* la voie lysosomale. La co-localisation de la ferro-GFP internalisée avec le marqueur lysosomal tardif Lamp1 renforce cette hypothèse. L'action est spécifique du couple hepcidine-ferroportine car l'internalisation de la ferro-GFP n'est pas observée en présence de protégrine, un autre peptide antimicrobien, et, inversement, l'hepcidine ne permet par l'internalisation du récepteur de l'EGF (*epidermal growth factor*). Les auteurs démontrent enfin, par des expériences d'immunoprécipitation, que la liaison entre l'hepcidine et la ferro-GFP est directe. Ainsi, trois ans après la démonstration du rôle crucial de l'hepcidine, ce travail permet-il de proposer une boucle de régulation assurant le contrôle de l'homéostasie du fer (*Figure 1*). Un excès de fer (par exemple, avec un régime riche en fer) induit l'expression hépatique d'hepcidine laquelle se lie directement avec la ferroportine pour entraîner son internalisation et sa dégradation. Le fer s'accumule alors

dans la cellule et n'est plus exporté. La conséquence en est une diminution du transport du fer alimentaire au niveau des entérocytes matures. L'érythropoïèse qui doit être maintenue pour produire suffisamment de globules rouges pompe alors sur les réserves de fer en excès, ce qui conduit peu à peu à dépler celles-ci et à rétablir un état d'équilibre. Du fait de sa petite taille, l'hepcidine a probablement une clairance très rapide, permettant ainsi une inversion rapide du processus.

Cet élégant travail, réalisé exclusivement sur un modèle cellulaire, demande maintenant une validation *in vivo* et pose la question de savoir si toutes les cellules exprimant la ferroportine vont être également sensibles à l'hepcidine. Outre l'entérocyte mature, l'hepcidine pourrait en effet agir sur l'export du fer, non seulement au niveau du système réticuloendothélial [2], mais également au niveau du placenta [5], en se liant sur la ferroportine qui est fortement exprimée dans les macrophages et les cellules du syncytiotrophoblaste placentaire. La prochaine étape concerne l'élucidation des interactions moléculaires entre l'hepcidine et la ferroportine et les mécanismes biochimiques mis en jeu lors de l'internalisation de la ferroportine. Il serait intéressant de déterminer à quel niveau (interaction et/ou internalisation) le processus est altéré avec les formes mutées de l'hepcidine (mutations faux-sens) identifiées chez l'homme dans des surcharges en fer sévères. De la même façon, le rôle du peptide de 20 acides aminés reste indéterminé. S'agit-il uniquement d'un produit de dégradation de la forme de 25 acides aminés ?

D'après les auteurs, la ferroportine représente le « récepteur » de l'hepcidine, mais l'hepcidine a-t-elle livré tous ses secrets? Il est en effet légitime de se demander si l'hepcidine ne pourrait pas agir (suivant sa concentration, ses partenaires, sa cible...) en utilisant un autre procédé.

Quoi qu'il en soit, ce travail constitue une

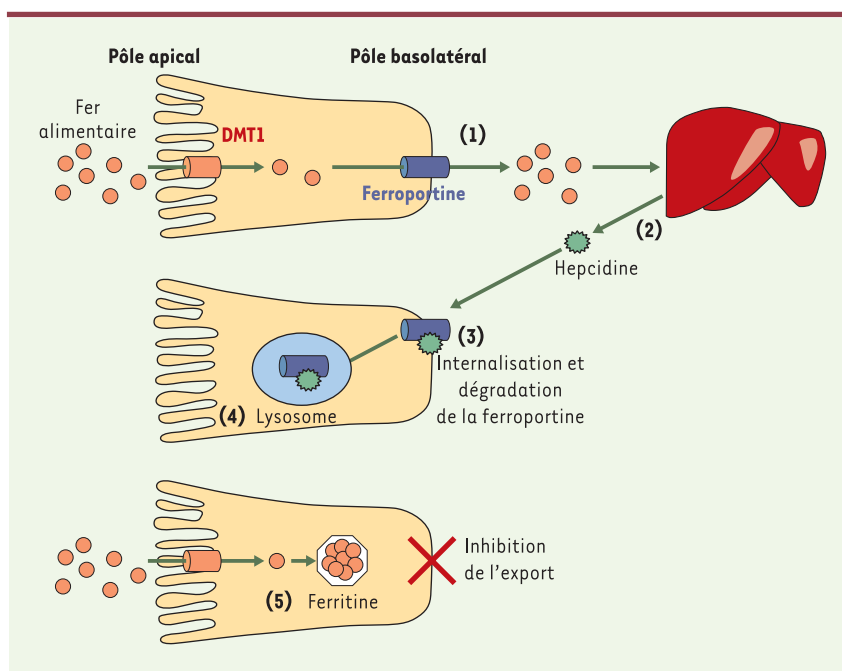
étape décisive pour le développement de molécules mimant les effets de l'hepcidine sur l'internalisation de la ferroportine pour traiter des situations physiopathologiques où l'hormone est trop faiblement produite (hémochromatose et autres). À l'inverse, le développement de molécules qui s'opposent à l'action de l'hepcidine sera recherché pour traiter des situations où la concentration urinaire de l'hormone est trop élevée, comme c'est le cas lors d'épisodes inflammatoires ou infectieux [7, 8]. L'hepcidine en excès entraînant alors une

dégradation trop importante de la ferroportine pourrait expliquer la mise en place de l'anémie fréquemment observée dans les états inflammatoires chroniques. ♦

### Deciphering the action mechanism of hepcidin

#### RÉFÉRENCES

1. Beaumont C. Mécanismes moléculaires de l'homéostasie du fer. *Med Sci (Paris)* 2004; 20: 68-72.
2. Nicolas G, Benounn M, Devaux I, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8780-5.



**Figure 1. Modèle du mécanisme d'action de l'hepcidine.** Après avoir été réduit, le fer alimentaire traverse la membrane apicale de l'entérocyte grâce au transporteur DMT1 puis transite vers la membrane basolatérale qu'il traverse en empruntant la ferroportine tout en étant réoxydé (1) (pour une revue plus détaillée des protéines impliquées, voir [1]). Le fer absorbé en excès est stocké au niveau du foie, provoquant une augmentation de la synthèse et de l'excrétion de l'hepcidine (par un mécanisme qui demeure inconnu) (2). L'hepcidine se lie alors directement sur la ferroportine (3), et induit son internalisation puis sa dégradation dans le lysosome (4). Le fer qui entre dans la cellule s'accumule alors dans la ferritine (5) et n'est plus exporté. Au final, le transport net du fer alimentaire est diminué et le pool de fer sera perdu lors de l'exfoliation de l'entérocyte au sommet de la villosité duodénale. Les réserves en fer (notamment hépatiques) sont alors utilisées pour maintenir une érythropoïèse efficace, ce qui, à terme, permet un retour à un état d'équilibre avec une diminution des réserves en fer. Lors d'une inflammation, une production excessive d'hepcidine pourrait aboutir à une dégradation trop importante de la ferroportine, engendrant une absorption insuffisante de fer. Un mécanisme similaire existerait au niveau des macrophages et des cellules du syncytiotrophoblaste, deux cibles tissulaires de l'hepcidine.



3. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, *et al.* A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001; 276: 7811-9.
4. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, *et al.* Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2002; 33: 21-2.

5. Nicolas G, Benounn M, Porteu A, *et al.* Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 4596-601.
6. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, *et al.* Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science Express* 28 octobre 2004.

7. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, *et al.* The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002; 110: 1037-44.
8. Nemeth E, Valore EV, Territo M, *et al.* Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003; 101: 2461-3.

## NOUVELLE

### Recyclage polarisé et formation de la synapse immune dans les lymphocytes T

Andrés Alcover, Maria Isabel Thoulouze, Thierry Galli

> Parmi les interfaces de communication entre les cellules du système immunitaire, la synapse immune est l'une des mieux étudiées. Induite par la reconnaissance de l'antigène, celle-ci se forme à la jonction entre le lymphocyte T et la cellule présentatrice d'antigène. La synapse immune se caractérise par l'accumulation, puis la réorganisation à l'interface cellulaire, de divers récepteurs de surface - dont le récepteur de l'antigène des lymphocytes T (récepteur T) -, de protéines du cytosquelette et de protéines de signalisation cellulaire. Sa description dans les années 1990 a soulevé des questions importantes, telles que l'universalité de son organisation, la nature des mécanismes qui mènent à sa formation et le rôle de cette structure très organisée dans le processus d'activation des lymphocytes T [1]. Une question centrale s'est alors posée: comment les récepteurs membranaires sont-ils transportés et s'accumulent-ils dans la synapse immune ? Plusieurs mécanismes interviendraient: les récepteurs se déplaceraient latéralement dans la membrane, soit par diffusion passive, soit par un mouvement actif facilité par le cytosquelette d'actine et par des moteurs moléculaires de type myosine [2] (Figure 1A). Les travaux récents de V. Das *et al.* [3] ont permis d'identifier un nouveau mécanisme de transport du récepteur T vers la synapse

immune (Figure 1B). Celui-ci met en jeu deux phénomènes différents: la propriété du récepteur T d'être internalisé et recyclé vers la membrane plasmique, et la capacité des lymphocytes T de polariser leur compartiment vésiculaire d'endocytose précoce et de recyclage vers la synapse immune. Des récepteurs T qui transitent par des endosomes peuvent ainsi être acheminés vers la synapse immune où ils sont recyclés vers la membrane plasmique. Ces travaux démontrent notamment que ce recyclage polarisé de récepteurs conduit à leur accumulation dans la synapse immune. Pour mettre en évidence ce mécanisme, des techniques de microscopie en temps réel ont d'abord été utilisées. Les résultats indiquent que des vésicules d'endocytose contenant des récepteurs T sont transportées vers la zone de contact entre le lymphocyte T et la cellule présentatrice d'antigène, et qu'elles recyclent les récepteurs dans cette zone de la cellule. Ces expériences démontrent en outre que ce type de transport est nécessaire pour que le récepteur T s'accumule au niveau de la synapse immune. L'exocytose des vésicules contenant les récepteurs T est sous le contrôle des protéines fusogènes SNARE, cellubrevine, syntaxine 4 et SNAP-23, homologues des protéines SNARE des

A. Alcover, M.I. Thoulouze: Unité de Biologie des interactions cellulaires, CNRS URA 2582, Institut Pasteur, 25, rue du docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.  
T. Galli: Inserm U.536, Institut du Fer à Moulin, 75005 Paris, France.  
[aalcover@pasteur.fr](mailto:aalcover@pasteur.fr)

synapses neuronales. Ainsi, la quantité de récepteur T accumulé dépend à la fois de la capacité du récepteur d'être internalisé, du transport de vésicules le long des microtubules, et du recyclage et de la fusion de vésicules d'exocytose avec la membrane plasmique. Les lymphocytes T peuvent ainsi transporter des récepteurs d'un endroit

à un autre de la membrane plasmique par une voie intracellulaire impliquant des endosomes [3].

La mise en jeu d'un tel mécanisme s'étend à bien d'autres transports que celui des récepteurs T. Il ferait partie d'un mécanisme plus général qui se met en place dans les lymphocytes T consécutivement à la reconnaissance antigénique. Par exemple, le récepteur de la transferrine, qui est recyclé continuellement pour transporter du fer du milieu extracellulaire vers l'intérieur de la cellule, suit le même parcours et s'accumule également dans la synapse immune. Hormis les récepteurs membranaires, ce mécanisme pourrait également impliquer des protéines de signalisation associées à la membrane plasmique, comme la tyrosine kinase Lck ou l'adaptateur LAT (*linker of activation of T cell*). Ces protéines transitent également par un compartiment vésiculaire qui contient des protéines endosomiques, compartiment qui se polarise et semble fusionner avec la membrane au niveau de la synapse immune [4, 5].