

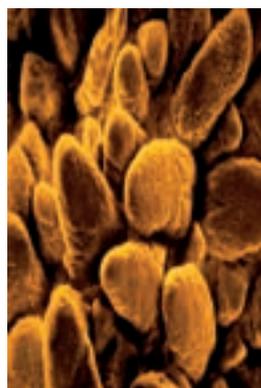
> Lors de processus inflammatoires, l'expression des enzymes et des transporteurs membranaires impliqués, d'une part dans la fonction de détoxification entéro-hépatique et, d'autre part, dans le métabolisme et l'élimination de la bilirubine ou des acides biliaires, est fortement diminuée. Il en résulte fréquemment des perturbations des propriétés pharmacocinétiques des médicaments, l'apparition de cholestases intra-hépatiques, et, parfois, des hyperbilirubinémies. Les récepteurs nucléaires CAR (NR1I3) et PXR (NR1I2) contrôlent l'expression des gènes impliqués dans ces processus, notamment les enzymes de phase I (cytochromes P450 des familles 2B et 3A), les enzymes de conjugaison (GSTA et UGT1A1), et les transporteurs membranaires MDR1, SLC21A6 et MRP2. De nouveaux travaux portant sur l'interférence entre ces récepteurs et le facteur transcriptionnel pro-inflammatoire NF-κB permettent de mieux comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine de ces observations cliniques. En effet, l'activation de NF-κB provoque d'une part une diminution de l'expression génique de CAR, PXR et RXRα et, d'autre part, l'inhibition de leur activité transcriptionnelle. En outre, l'inhibition mutuelle des voies NF-κB et PXR (similaire à celle observée entre NF-κB et le récepteur des glucocorticoïdes) pourrait être à l'origine de la répression du système immunitaire par certaines molécules thérapeutiques ou environnementales, activatrices du récepteur PXR. ◀

Inflammation et métabolisme des médicaments

NF-κB

et les xénorécepteurs CAR et PXR

Jean-Marc Pascussi, Marie-José Vilarem



Inserm, U632 ;
 Université Montpellier 1,
 UMR-S632,
 1919, route de Mende,
 34293 Montpellier, France.
pascussi@montp.inserm.fr

l'augmentation de l'hydrosolubilité et l'efflux hors de l'organisme de molécules exogènes ou endogènes lipophiles potentiellement toxiques. Ce processus est le résultat de l'action coordonnée des enzymes de fonctionnalisation ou de phase I (notamment les cytochromes P450, CYPs), des enzymes de conjugaison ou de phase II (comme les glutathion-S-transférases, les sulfo-transférases et les UDP-glucuronosyl-transférases) et de transporteurs membranaires de phase III [notamment la P-glycoprotéine MDR1 (*multidrug resistance*) ou les transporteurs OATP2 (*organic anion transport protein*) et MRP2].

Les récepteurs PXR (*pregnane X receptor*, NR1I2) et CAR (*constitutive androstane receptor*, NR1I3) appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires et coordonnent cette cascade métabolique qui constitue la fonction de détoxification entéro-hépatique [1]. Ces récepteurs sont majoritairement exprimés dans le foie (hépatocytes) et le tractus digestif (entérocytes). Contrairement à la majorité des récepteurs nucléaires « classiques », chargés de reconnaître une hormone endogène avec une forte affinité et une forte spécificité en vue de régler une fonction physiologique précise, ces récepteurs de faible affinité et de faible spécificité semblent être dédiés à la reconnaissance d'une myriade de molécules toxiques de structure et d'origine diverses en vue de leur métabolisme et élimination. En effet, ils sont activés par de très nombreuses molécules endo-

Nous sommes constamment et inévitablement exposés à de nombreuses agressions bactériennes, virales et chimiques. La majorité des agresseurs chimiques sont hydrophobes et leur métabolisme est donc nécessaire pour les rendre plus hydrophiles et plus faciles à éliminer. Ce mécanisme de défense est assuré en grande partie par la fonction de détoxification entéro-hépatique. Cette cascade métabolique a pour but ultime

gènes (hormones stéroïdes, acides biliaires) et exogènes ou xénobiotiques (médicaments, toxines végétales, polluants, pesticides, etc.). De plus, ils contrôlent l'expression des acteurs majeurs des différentes voies impliquées dans l'élimination de ces composés. Sous forme d'hétéro-dimères avec leur partenaire obligatoire, le récepteur RXR de l'acide rétinoïque 9-*cis* (RXR α), ils se lient à de courtes séquences d'ADN [PXRE (*response element*) - PXR, ou CARE (*response element*) - CAR] présentes au sein des promoteurs de leurs nombreux gènes cibles, tels que CYP2B6, CYP3A4, CYP2C8, CYP2C9, UGT1A1, GSTA, MDR1, MRP2, etc. À ce titre, CAR et PXR induisent l'expression des enzymes (réponse adaptative et transitoire) contrôlant les effets thérapeutiques ou toxiques des molécules médicamenteuses dont elles assurent le métabolisme (90 % des médicaments actuels sont métabolisés par les CYP des familles 1, 2 et 3, et environ 60 % par le seul CYP3A4).

Le rôle protecteur de PXR et CAR contre les effets néfastes de l'accumulation de composés endogènes ou exogènes dans l'organisme peut cependant engendrer des effets cliniques indésirables. En effet, l'activation de ces récepteurs en réponse à l'exposition,

volontaire ou non, à des xénobiotiques (d'origine médicamenteuse ou non médicamenteuse) peut conduire à des variations d'élimination et/ou de production de métabolites toxiques risquant de modifier la pharmacologie et la toxicologie de molécules thérapeutiques. Par exemple, il a été montré que l'hyperforine (retrouvée dans des préparations issues du Millepertuis utilisé en médecine douce en automédication, ou sous forme de tisane dans le traitement de la dépression), ou le taxol (anticancéreux) sont des activateurs très efficaces de PXR et peuvent ainsi réduire de manière significative leur propre efficacité, ou celle des traitements administrés de manière concomitante, en raison de l'activation de la cascade métabolique [2].

CAR, PXR et métabolisme de la bilirubine et des acides biliaires

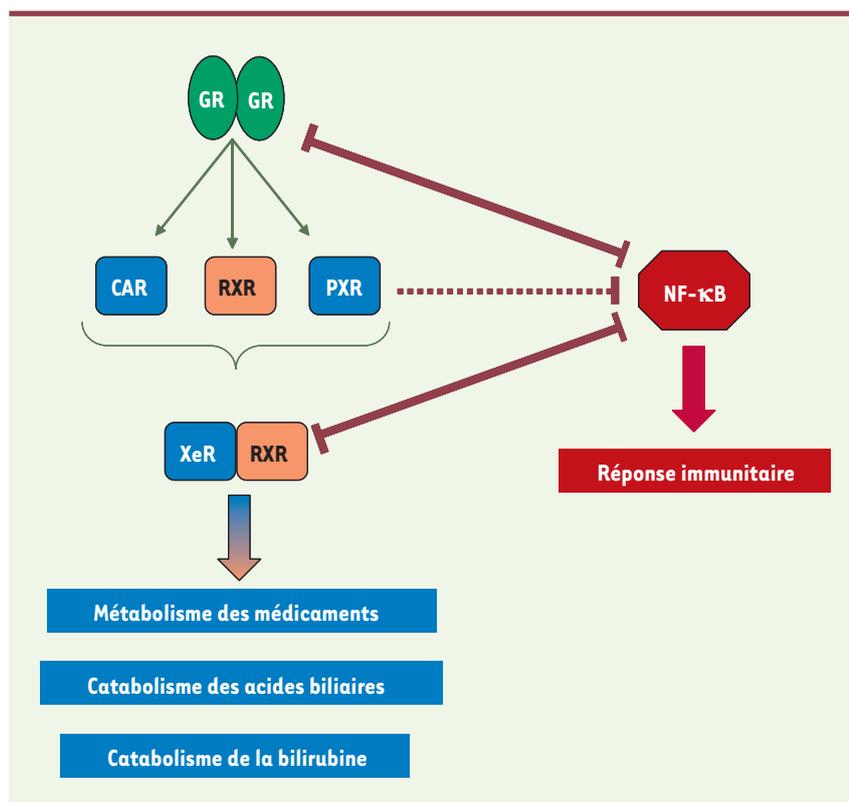


Figure 1. Interférences entre le facteur de transcription pro-inflammatoire NF- κ B p65 RelA et les xénorécepteurs CAR et PXR. Dans l'hépatocyte, l'activation de NF- κ B p65 RelA (NF- κ B) induit d'une part l'inhibition du récepteur des glucocorticoïdes (GR), ce qui conduit à la diminution de l'expression de ses gènes cibles CAR, PXR et RXR α , et d'autre part, à la formation d'hétérodimères inactifs NF- κ B p65 RelA:RXR, ce qui provoque l'inhibition des gènes cibles des xénorécepteurs CAR et PXR (XeR). En outre, dans l'entérocyte, l'activation de PXR provoque l'inhibition de l'expression des gènes cibles de NF- κ B selon un mécanisme encore inconnu.

Hormis le métabolisme de composés exogènes, CAR et PXR semblent participer à la régulation de l'homéostasie des acides biliaires et de la bilirubine. En effet, le récepteur PXR reconnaît certains acides biliaires toxiques (notamment les acides biliaires secondaires très hydrophobes, tels que le lithocholate) et régule la captation au niveau de l'hépatocyte, la biosynthèse, le catabolisme et enfin l'excrétion de ces composés [3, 4, 31]. À ce titre, le rôle de PXR est complémentaire de l'action prépondérante du récepteur FXR (*farnesoid X receptor*) sur l'homéostasie du cholestérol et des acides biliaires. L'activation de PXR provoque : (1) une augmentation du transporteur OATP-2 ; (2) une diminution de l'expression des CYP7A et CYP8A, enzymes clés de la conversion du cholestérol en acides biliaires ; (3) une forte induction du CYP3A4 chargé de la 6 β -hydroxylation de ces composés toxiques ; et enfin (4) une augmentation du transporteur d'efflux BSEP (*bile salt export pump*). Le fait que la rifampicine possède une affinité importante pour ce récepteur expliquerait son action bénéfique (notamment antiprurigineuse en diminuant la sensation de démangeaison épidermique ou sous-épidermique) observée chez certains patients

qui développent une cholestase [5]. Par ailleurs, le récepteur CAR, initialement caractérisé comme le récepteur responsable de l'induction des CYP2B6 et CYP3A4 par le phénobarbital [6], semble être très fortement impliqué dans le contrôle de l'homéostasie de la bilirubine. En effet, il a été rapporté que ce récepteur est, d'une part activable par des taux élevés de bilirubine intra-hépatocytaire, et d'autre part, il compte parmi ses gènes cibles SLC21A6, l'UGT1A1 et MRP2, respectivement impliqués dans la captation hépatique, le métabolisme et l'efflux de la bilirubine vers le canal biliaire [7-9]. Autrement dit, *via* l'activation de CAR, la bilirubine induit sa propre clairance. Ces observations expliquent, *a posteriori*, les bienfaits de l'utilisation du phénobarbital ou des décoctions de théis issues de la pharmacopée chinoise à base d'*Artemisiae*, qui s'avèrent contenir un activateur puissant de CAR (6,7 diméthylesculetin), lors de certaines formes graves de jaunisse du nourrisson [10].

Influence de l'inflammation et de l'infection sur la fonction de détoxication entéro-hépatique

Interférence avec les glucocorticoïdes et les cytokines

L'activation des récepteurs PXR et CAR par des médicaments ou des molécules endogènes est à l'origine de l'induction des enzymes et transporteurs de la fonction de détoxication entéro-hépatique. À l'inverse, il est connu que l'inflammation et l'infection inhibent la fonction de détoxication entéro-hépatique et le métabolisme des médicaments [11], avec des conséquences cliniques et toxicologiques importantes [12]. Ces altérations de clairance peuvent entraîner une perte de l'efficacité thérapeutique ou une toxicité sévère de certains médicaments. De plus, certains syndromes inflammatoires ou infectieux chroniques provoquent des cholestases intra-hépatiques et/ou des hyperbilirubinémies [13, 14]. Ces effets, longtemps inexpliqués, peuvent être maintenant rapportés à la diminution de l'expression des acteurs majeurs de la fonction de détoxication entéro-hépatique chez ces patients. Notamment, nous avons observé que l'expression et l'activité des récepteurs CAR et PXR sont étroitement régulées par des médiateurs pro- et anti-inflammatoires. En effet, alors que l'expression des gènes *PXR* et *CAR* est augmentée par les glucocorticoïdes lors de l'activation du récepteur GR (*glucocorticoid receptor*) [15, 16], certaines cytokines et molécules pro-inflammatoires (dont l'interleukine-6 [IL-6], l'IL-1 β , et les lipo-

polysaccharides ou LPS) inhibent l'expression transcriptionnelle de ces récepteurs [17, 18]. Nous avons montré que les glucocorticoïdes sont nécessaires au maintien de l'expression des récepteurs CAR et PXR et à l'inductibilité de leurs gènes cibles dans l'hépatocyte humain. *A contrario*, des stimulus pro-inflammatoires comme les cytokines IL-1 β et IL-6 ou le LPS inhibent de façon significative l'expression des ARNm codant les récepteurs PXR et CAR. L'étude de la cinétique d'action de ces molécules pro-inflammatoires montre une inhibition rapide et réversible des niveaux d'expression des récepteurs PXR et CAR. Il en résulte une diminution significative de l'expression basale et de l'inductibilité des CYP, enzymes de phase II et transporteurs normalement régulés par ces récepteurs. Ces travaux ont en outre permis de montrer l'importance du facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) et de la protéine activatrice-1 (AP-1), deux facteurs transcriptionnels majeurs impliqués dans l'inflammation, dans l'inhibition de l'expression de CAR et PXR dans l'hépatocyte humain. En effet, une fois activées, ces protéines interfèrent négativement avec la voie de signalisation du GR et répriment ainsi la transcription des xénorécepteurs CAR et PXR et de leurs gènes cibles.

Le rôle pivot de la famille NF- κ B : inhibition de l'activité transcriptionnelle de PXR

La famille NF- κ B a un rôle pivot dans la régulation de la réponse immunitaire. Sous leurs formes inactives, les dimères NF- κ B p65 RelA:p50 sont retenus dans le cytoplasme par leur association avec les protéines inhibitrices I κ B. En réponse à des stimulus pro-inflammatoires, les I κ B sont rapidement phosphorylées, ubiquitinylées et finalement dégradées. Les dimères NF- κ B p65 RelA:p50 ainsi libérés passent dans le noyau et provoquent, d'une part l'activation de la transcription de gènes cibles spécifiques [19] et d'autre part, l'inhibition de nombreux récepteurs nucléaires stéroïdiens dont le GR [32]. NF- κ B p65 RelA joue un rôle essentiel dans la réponse aux LPS ou aux cytokines pro-inflammatoires dans l'hépatocyte [20, 21]. Nous avons identifié le site d'association du GR sur le promoteur CAR [22] et pu mettre en évidence le rôle de l'antagoniste fonctionnel GR/NF- κ B p65 RelA dans l'inhibition de la transcription de CAR par l'IL-1 β et le LPS [17]. Par la suite, d'autres études ont confirmé nos résultats, notamment *in vivo* chez les rongeurs. En effet, chez la souris, le LPS provoque une inhibition du niveau d'expression des ARN messagers codant pour les CYP3A11, CYP2A5, CYP2C29 [23], ou une inhibition du transporteur des xénobiotiques *mrp2* [24]. De plus, ces effets sont atténués chez la souris dépourvue du gène codant pour le récepteur PXR (*pxr*^{-/-}), suggérant un rôle de PXR dans cette régulation [24]. De même, une diminution de l'expression des récepteurs nucléaires PXR, CAR, et RXR α a été démontrée par des analyses de *microarray* sur des ARN issus de foies de rats Wistar traités au LPS [25]. Enfin, le rôle prépondérant de l'expression des récepteurs PXR, CAR et RXR sur le mécanisme d'inhibition des CYP3A et 2B a été confirmé et précisé par les travaux de Xu [26] et Beigneux [27] qui montrent que l'inhibition de l'expression des CYP3A et 2B10 est associée à une diminution de l'expression de PXR, CAR et RXR.

Récemment, une inhibition fonctionnelle entre NF- κ B et PXR a été révélée, comme il existe une inhibition fonctionnelle entre NF- κ B et GR. Notamment, il a été montré que l'activation de NF- κ B inhibe l'induction du CYP3A4 par le PXR *in vivo* [28] et *in vitro* [29]. NF- κ B diminue l'activité transcriptionnelle de PXR, alors que l'inhibition de NF- κ B augmente la transactivation des gènes cibles du PXR. Gu *et al.* ont pu mettre en évidence que l'activation de NF- κ B p65 RelA provoque la diminution de l'interaction entre l'hétérodimère PXR:RXR α et les séquences PXRE du promoteur du gène CYP3A4 [29]. Contrairement à l'interaction directe qui existe entre le GR et NF- κ B p65 RelA, il n'y a pas d'association physique directe entre PXR et NF- κ B p65 RelA. Il semble que ce soit le domaine de liaison à l'ADN (DNA binding domain ou DBD) du RXR α qui interagisse avec NF- κ B p65 RelA. Ces résultats suggèrent que d'autres partenaires de RXR α pourraient être la cible d'une telle inhibition en réponse à l'activation de NF- κ B p65 RelA. Il serait très intéressant de définir dans quelle mesure l'activité transcriptionnelle de CAR peut être affectée lors de l'activation de la voie NF- κ B. Enfin, il a été montré *in vivo* chez la souris que l'activation de PXR provoque une diminution de l'expression des gènes cibles de la voie NF- κ B, tels que COX-2, TNF- α et ICAM-1, mais uniquement au niveau des entérocytes [28]. Ces effets ne sont plus observés en l'absence de PXR (souris *pxr*^{-/-}). De même, une surexpression de ces mêmes gènes ainsi qu'une inflammation de l'intestin dans les souris *pxr*^{-/-} par rapport aux souris témoins ont été observées, suggérant que PXR inhibe l'expression des gènes cibles de la voie NF- κ B dans cet organe. Ces résultats semblent être à rapprocher d'une récente observation clinique suggérant un lien entre une altération fonctionnelle de PXR et/ou une expression réduite de PXR et l'apparition d'un syndrome inflammatoire du tractus gastro-intestinal (IBD, *inflammatory bowel diseases*) [30].

Conclusion

Ainsi, il semble de plus en plus évident que les deux systèmes de défense de l'organisme, l'un, le système immunitaire, dédié à la reconnaissance et à l'éradication des intrus bactériens, viraux ou cellulaires, et l'autre dédié à la reconnaissance et au métabolisme d'agresseurs chimiques lipophiles, interfèrent en s'inhibant mutuellement. Ces résultats permettent de mieux comprendre les différents mécanismes moléculaires à la base de ces interactions fonctionnelles. D'une part, les cytokines pro-inflammatoires inhibent l'expression basale et induite des enzymes et des transporteurs de la fonction de détoxification entéro-hépatique ainsi que celle des récepteurs nucléaires CAR et PXR chargés de coordonner leur expression. D'autre part, le facteur de transcription NF- κ B p65 RelA bloquerait l'activité transcriptionnelle de PXR, et peut-être celle de CAR, en se liant à leur partenaire obligatoire RXR α . En outre, il serait très intéressant de définir dans quelle mesure l'activité transcriptionnelle de RXR α , CAR et PXR peut être affectée en réponse à l'activation de la voie AP-1, notamment le rôle de la sous-unité Jun de AP-1 qui est connue pour interagir en situation intranucléaire avec le complexe glucocorticoïde-GR. \diamond

SUMMARY

Molecular mechanisms linking xenobiotic metabolism and inflammation

Decreased drug metabolism, hyperbilirubinemia and intrahepatic cholestasis are frequently observed during inflammation. Additionally, it has long been appreciated that exposure to drug metabolism-inducing xenobiotics can impair immune function. The nuclear receptor CAR (*constitutive androstane receptor* or NR1I3) and PXR (*pregnane X receptor*, NR1I2) control phase I (cytochrome P450 2B and 3A), phase II (GSTA, UGT1A1), and transporter (MDR1, SLC21A6, MRP2) genes involved in drugs metabolism, bile acids and bilirubin clearance in response to xenobiotics. It is well known that inflammation, through the activation of NF- κ B pathway, leads to a decrease of CAR, PXR and RXR α expression and the expression of their target genes. In addition, a new study reveals the mutual repression between PXR and NF- κ B signaling pathways, providing a molecular mechanism linking xenobiotic metabolism and inflammation. \diamond

RÉFÉRENCES

1. Waxman DJ. P450 gene induction by structurally diverse xenochemicals: central role of nuclear receptors CAR, PXR, and PPAR. *Arch Biochem Biophys* 1999; 369: 11-23.
2. Mannel M. Drug interactions with St John's wort: mechanisms and clinical implications. *Drug Saf* 2004; 27: 773-97.
3. Kliewer SA, Willson TM. Regulation of xenobiotic and bile acid metabolism by the nuclear pregnane X receptor. *J Lipid Res* 2002; 43: 359-64.
4. Xie W, Radomska-Pandya A, Shi Y, *et al.* An essential role for nuclear receptors SXR/PXR in detoxification of cholestatic bile acids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3375-80.
5. Ghent CN, Carruthers SG. Treatment of pruritus in primary biliary cirrhosis with rifampin. Results of a double-blind, crossover, randomized trial. *Gastroenterology* 1988; 94: 488-93.
6. Sueyoshi T, Negishi M. Phenobarbital response elements of cytochrome P450 genes and nuclear receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 123-43.
7. Huang W, Zhang J, Chua SS, *et al.* Induction of bilirubin clearance by the constitutive androstane receptor (CAR). *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 4156-61.
8. Sugatani J, Kojima H, Ueda A, *et al.* The phenobarbital response enhancer module in the human bilirubin UDP-glucuronosyltransferase UGT1A1 gene and regulation by the nuclear receptor CAR. *Hepatology* 2001; 33: 1232-8.
9. Wagner M, Halilbasic E, Marshall HU, *et al.* CAR and PXR agonists stimulate hepatic bile acid and bilirubin detoxification and elimination pathways in mice. *Hepatology* 2005; 42: 420-30.
10. Huang W, Zhang J, Moore DD. A traditional herbal medicine enhances bilirubin clearance by activating the nuclear receptor CAR. *J Clin Invest* 2004; 113: 137-43.
11. Aitken AE, Richardson TA, Morgan ET. Regulation of drug-metabolizing enzymes and transporters in inflammation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006; 46: 123-49.
12. Morgan ET. Regulation of cytochromes P450 during inflammation and infection. *Drug Metab Rev* 1997; 29: 1129-88.
13. Moseley RH. Sepsis-associated cholestasis. *Gastroenterology* 1997; 112: 302-6.
14. Trauner M, Fickert P, Stauber RE. Inflammation-induced cholestasis. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 946-59.

