

Métabolisme, diabète et obésité

Les nutriments en général, le glucose en particulier, sont probablement parmi les premiers modulateurs de la transcription des gènes à être apparus au cours de l'évolution des cellules vivantes. Cependant, leurs mécanismes d'action restent beaucoup moins bien connus que, par exemple, ceux de nombreuses hormones. D'importants progrès ont été faits sur la régulation de gènes par le glucose dans le foie et le tissu adipeux des vertébrés. Certains des mécanismes ainsi élucidés pourraient être impliqués dans les anomalies métaboliques associées aux diabètes et à l'obésité. Parmi les causes de diabètes non insulino-dépendants, on retrouve des altérations du récepteur de l'insuline. Certains résultats suggèrent qu'une insuffisance de la transcription de son gène pourrait être impliquée ; l'obésité, souvent associée à ce type de diabète, aggrave la résistance à l'insuline du tissu adipeux et du muscle ; la cause pourrait en être une sécrétion de TNF- α par les adipocytes en excès chez les obèses, qui aboutirait à une inhibition du signal relayé par le récepteur de l'insuline.

Le glucose induit l'expression génique par l'intermédiaire de la voie des pentoses-phosphates

Le métabolisme du glucose produit de l'énergie qui sera utilisée immédiatement ou entreposée dans l'organisme sous forme de glycogène ou de lipide pour une utilisation ultérieure. Les voies métaboliques par lesquelles le glucose est métabolisé sont assez bien connues. Cependant, nous ne connaissons pas de quelle façon le métabolisme du glucose transmet son signal à la machinerie transcriptionnelle pour induire les gènes. Parmi ces gènes induits par le glucose, on peut citer ceux codant pour l'insuline, les enzymes du métabolisme telles la pyruvate kinase hépatique impliquée dans la glycolyse, l'acétyl CoA carboxylase et l'acide gras synthase impliquées dans la lipogenèse, le transporteur du glucose hépatique, Glut 2, etc. [1-4]. L'analyse des régions d'ADN en amont de la plupart de ces gènes a permis de mettre en évidence de courtes séquences d'ADN analogues de type CACGTG, appelées boîte E. Elles sont la cible de facteurs de transcription ubiquitaires appartenant à la famille b-HLH/LZ

(basic-leucine zipper/helix-loop-helix) [5]. Notre laboratoire (Institut Cochin de Génétique Moléculaire, Inserm U.129, Paris) a caractérisé l'élément d'ADN impliqué dans le contrôle de la transcription du gène de la pyruvate kinase hépatique de type L (PK-L) par les nutriments et les hormones, localisé entre -170 et -150 pb par rapport au site de début de transcription, et l'a dénommé GIRE (*glucose response element*) [6]. Cette séquence de réponse présente la particularité d'être constituée d'un palindrome contenant deux boîtes E séparées de 5 pb, capables de lier des protéines de la famille USF (*upstream stimulating factor*) [7] (*figure 1*). Malgré ces progrès dans l'élucidation des mécanismes du contrôle transcriptionnel par le glucose, la nature du signal et les intermédiaires de la réponse restaient jusqu'à ce jour totalement inconnus. *In vivo*, la réponse à un régime hyperglucidique est difficile à analyser, car il est impossible de distinguer les effets propres des métabolites du glucose des effets induits par les hormones

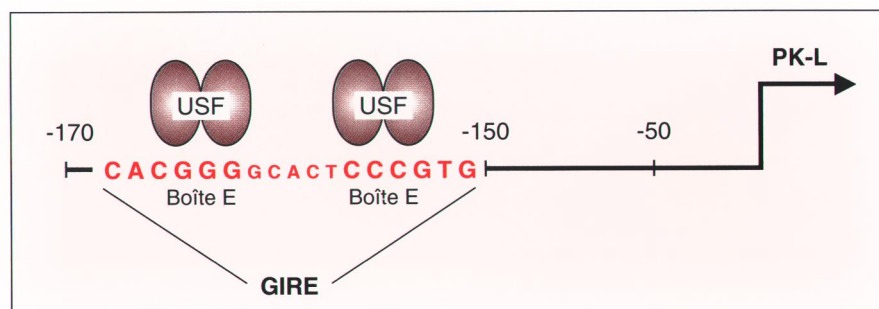


Figure 1. Schéma de l'élément d'ADN impliqué dans le contrôle de la transcription du gène de la pyruvate kinase hépatique. L'élément de réponse au glucose (GIRE) du gène de la pyruvate kinase hépatique est constitué de deux boîtes E dégénérées, capables de lier des protéines de la famille USF (upstream stimulating factor).

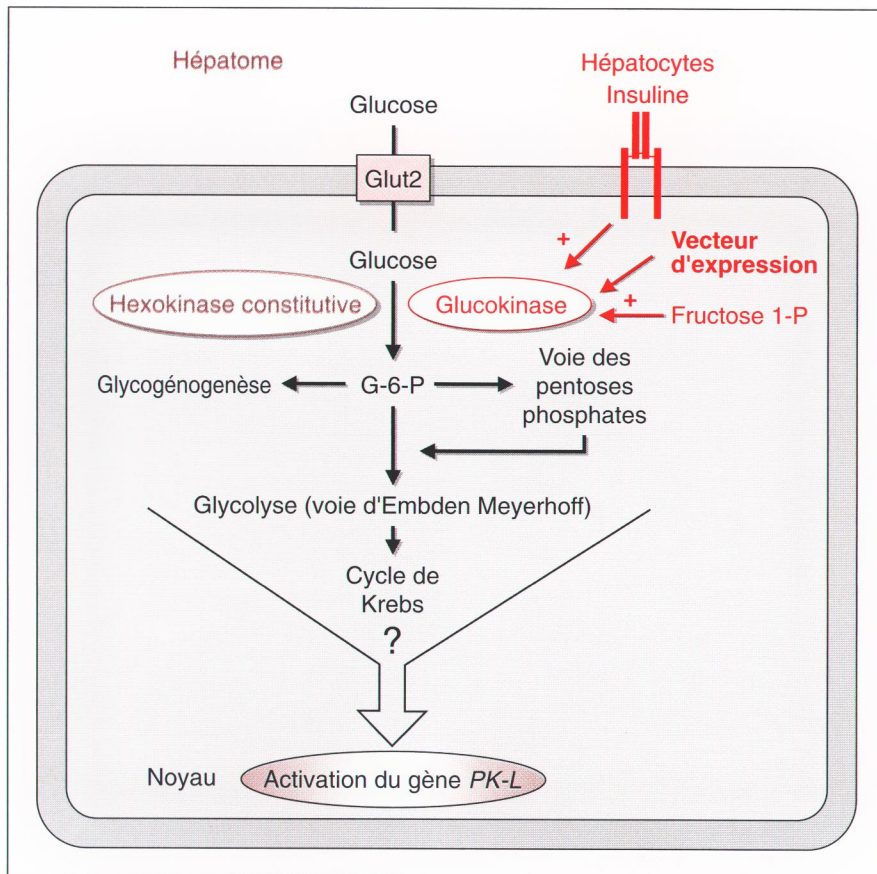


Figure 2. **Rôle du glucose et de l'insuline dans l'activation transcriptionnelle du gène PK-L.** Le glucose, entrant dans les hépatocytes par le transporteur Glut 2, doit être phosphorylé en glucose 6-P (G-6-P) pour activer la transcription du gène PK-L. Cette phosphorylation est normalement assurée par la glucokinase, dont l'expression du gène est activée par l'insuline. Cependant, cette phosphorylation du glucose peut aussi être assurée en l'absence d'insuline dans certaines conditions: dans des hépatomes par d'autres isoformes d'hexokinase, synthétisées de façon constitutive [15]; dans des hépatocytes transfectés par un vecteur d'expression pour la glucokinase et synthétisant donc cette enzyme indépendamment de l'insuline; et après stimulation par le fructose, aboutissant à la synthèse de fructose 1-P, un activateur allostérique stimulateur de la glucokinase résiduelle présente en l'absence d'insuline [11].

comme l'insuline et le glucagon dont la sécrétion est contrôlée par la glycémie et d'autres facteurs nutritionnels. C'est grâce aux études *ex vivo* que, dans certains cas, les rôles respectifs du glucose et des hormones ont pu être analysés indépendamment. Schématiquement, on peut opposer les gènes qui répondent à l'insuline seule à ceux qui nécessitent pour leur réponse le glucose en présence d'insuline. On sait que le glucose est transporté dans l'hépatocyte par le transporteur du glucose, Glut 2 [8], et que, pour agir sur la transcription des gènes du métabolisme, il doit être phosphorylé en glucose 6-phosphate. Cette phosphorylation est assurée par une hexokinase particulière, la glucokinase, présente uniquement dans les hépatocytes et les cellules β pancréatiques. A partir du glucose 6-phosphate s'ouvrent les différentes voies métaboliques possibles: (1) glycolyse anaérobie par la voie d'Embden

Meyerhoff et par la voie des pentoses phosphates, actives dans toutes les cellules; (2) glycogénogenèse, dans le foie, le rein et le muscle (figure 2). L'expression du gène de la pyruvate kinase de type L (PK-L) dans les hépatocytes est contrôlée positivement par l'insuline et le glucose et négativement par le glucagon, aux niveaux transcriptionnel et post-transcriptionnel [9]. Afin de mettre en évidence l'importance relative de l'insuline et du glucose dans l'expression de la PK-L, il faut pouvoir activer la glycolyse en l'absence d'insuline. L'insuline contrôle positivement l'expression du gène de la glucokinase dans le foie, stimulant ainsi la conversion du glucose en glucose 6-phosphate qui est la première étape de la glycolyse. Or, E. Van Schäftingen *et al.* (ICP, Bruxelles, Belgique) ont démontré que, dans le foie, de faibles concentrations de fructose stimulent, même en l'absence d'insuline, l'acti-

tivité enzymatique de la petite quantité persistante de la glucokinase, et donc la phosphorylation du glucose en glucose 6-phosphate [10]. Nous avons, quant à nous, vérifié que le glucose, en présence de faibles concentrations de fructose (0,2 mM) active en effet l'activité du promoteur du gène PK-L malgré l'absence d'insuline dans des cultures primaires d'hépatocytes. De plus, l'expression constitutive de la glucokinase dont le gène a été transféré dans des hépatocytes à l'aide d'un vecteur d'expression stimule aussi le promoteur PK-L en présence de glucose et en l'absence d'insuline [11]. Le rôle de l'insuline dans la réponse au glucose de gènes dans le foie consisterait donc, au moins en partie, à activer la transcription du gène de la glucokinase (figure 2). Il s'agissait ensuite de préciser quelle(s) voie(s) métabolique(s) emprunte le glucose pour induire l'activation

de la PK-L et, probablement, des autres gènes répondant au glucose dans le foie et le tissu adipeux. Le glucose 6-phosphate ou d'autres métabolites pourraient être des agents déclenchants de la transmission d'un signal à la machinerie transcriptionnelle. Cependant, le 2-désoxyglucose, qui est phosphorylé en 2-désoxyglucose 6-phosphate et qui ne peut être métabolisé par la suite dans la voie de la glycolyse anaérobie, est capable d'activer le promoteur du gène de la PK-L dans certaines cellules, ce qui élimine la responsabilité de métabolites de la voie d'Embden Meyerhoff [12]. En outre, le lactate n'induit pas la réponse transcriptionnelle du gène de la PK-L, ce qui suggère, que le cycle de Krebs, qui est la voie d'entrée du lactate dans le métabolisme, n'est pas impliqué. Le mécanisme de l'induction génique de la PK-L par le glucose pourrait donc passer par un métabolite situé sur la chaîne de la glycolyse entre le glucose 6-phosphate et l'entrée dans le cycle de Krebs (figure 2).

De fait, nous venons de montrer qu'un alcool en C₅, le xylitol, mimait les effets du glucose sur l'expression du gène de la PK-L, actif à plus faible concentration que celui-ci et indépendant de l'insuline dans les hépatocytes en culture primaire [13]. Le xylitol est rapidement transformé, dans la cellule, en xylulose 5-phosphate, un métabolite de la voie des pentoses-phosphates. Nous n'avons pas observé de formation de glucose 6-phosphate à partir de la concentration de xylitol (0,5mM) utilisée, pourtant pleinement activatrice du promoteur PK-L, excluant donc l'hypothèse que l'effet du xylitol serait dû à la retransformation du xylulose 5-phosphate en glucose 6-phosphate. Très récemment, des auteurs de Dallas (TX, USA) ont démontré que ce pentose-phosphate est un activateur de la protéine phosphatase-2A [14]. Or, d'autres résultats de notre groupe montrent qu'une inhibition des protéine phosphatases par l'acide okadaïque inhibe la réponse du gène PK-L au glucose. Nous pensons donc que la réponse transcriptionnelle au glucose est relayée par la voie des pentoses, plus particulièrement par le xylulose 5-phosphate qui activerait une phosphatase cellulaire, déclenchant ainsi probablement une

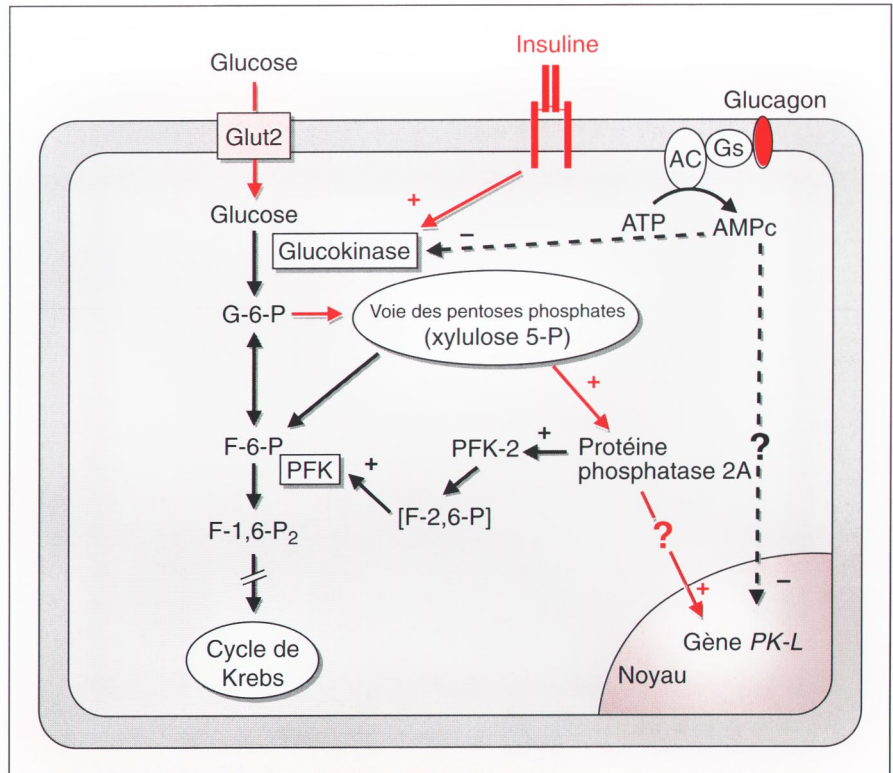


Figure 3. Modèle de transduction du signal glucose à la machinerie transcriptionnelle. Le glucose est transporté dans les hépatocytes par le transporteur du glucose, Glut 2. Phosphorylé en glucose 6-phosphate par la glucokinase, son catabolisme passe, soit par la voie d'Embden-Meyerhoff, soit par la voie des pentoses-phosphates, aboutissant alors à la synthèse de xylulose 5-phosphate. Notre hypothèse est que l'agent déclenchant la transmission d'un signal glucose à la machinerie transcriptionnelle est le xylulose 5-phosphate. Celui-ci active la protéine phosphatase 2A, déclenchant ainsi probablement une cascade de réactions de phosphorylation/déphosphorylation dont l'effet est d'activer l'expression de gènes induits par le glucose, tel celui de la pyruvate kinase. En outre, l'activation par la protéine phosphatase 2A de la phosphofructokinase-2 (PFK-2) augmente la concentration de fructose 2,6-bisphosphate (F-2,6-P). Le F-2,6-P, par réaction allostérique, active la phosphofructokinase, ce qui accélère le flux glycolytique. Dans les hépatocytes, l'insuline active et le glucagon inhibe la synthèse de glucokinase. Il est possible que le glucagon puisse aussi inhiber l'induction génique par le glucose en phosphorylant directement des facteurs de transcription associés au complexe constitué autour du GIRE (glucose response element). Gs : protéine Gs ; AC : adénylyl-cyclase.

cascade de réactions de phosphorylation/déphosphorylation qui module-rait *in fine* l'activité du complexe de réponse au glucose. Le 2-désoxyglucose 6-phosphate peut également être métabolisé en pentose-phosphate, ce qui explique que le 2-désoxyglucose puisse remplacer le glucose dans certaines cellules. L'AMP cyclique, par l'inter-

médiaire de l'activation de la protéine kinase A, aurait un effet inverse de celui de l'accumulation du xylulose 5-phosphate (figure 3).

Le signal glucose modulant l'activité du complexe transcriptionnel de réponse au glucose passe donc par la voie des pentoses-phosphates, aboutissant à la synthèse de xylulose 5-phos-

phate qui pourrait être le métabolite actif recherché. Il est bien connu que la voie des pentoses-phosphates exerce deux fonctions importantes: (1) engendrer le NADPH nécessaire aux synthèses réductrices, comme la biosynthèse des acides gras et des stéroïdes; (2) fournir le ribose pour la biosynthèse des nucléotides et des acides nucléiques. Ces nouvelles données mettent en lumière une autre fonction de la voie des pentoses-phosphates, celle de transmettre le signal glucose à la machinerie transcriptionnelle ■

Bruno Doiron

Institut Cochin de Génétique Moléculaire,
Inserm U.129, CHU Cochin, 24, rue du
Faubourg-Saint-Jacques, 75094 Paris,
France.

TIRÉS À PART

B. Doiron.

RÉFÉRENCES

1. Granner D, Pilkis S. The genes of hepatic glucose metabolism. *J Biol Chem* 1990; 265: 10173-6.
2. German MS, Wang J. The insulin gene contains multiple transcriptional elements that respond to glucose. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 4067-5.
3. Foufelle F, Lepetit N, Bosc J, Delzenne N, Morin J, Raymondjean M, Ferré P. DNAase I hypersensitivity sites and nuclear protein binding on the fatty acid synthase gene: identification of an element with properties similar to known glucose-responsive elements. *Biochem J* 1995; 308: 521-7.
4. Chen L, Alam T, Johnson JH, Hughes S, Newgard CB, Unger XH. Regulation of B-cell glucose transporter gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 4088-92.
5. Baxevanis AD, Vinson CX. Interaction of coiled coils in transcription factors: where is the specificity? *Curr Op Genet Dev* 1993; 3: 278-85.
6. Diaz Guerra MJM, Bergot MO, Martinez A, Cuif MH, Kahn A, Raymondjean M. Functional characterisation of the L-pyruvate kinase gene glucose response complex. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 7725-33.
7. Blackwood E, Eisenman R. Max: a Helix-loop-helix zipper protein that forms a sequence-specific DNA-binding complex with Myc. *Science* 1991; 251: 1211-7.
8. Guerre-Millo M. Les transporteurs d'hexoses. *médecine/sciences* 1995; 11: 1111-9.
9. Vaulont S, Kahn A. Transcriptional control of metabolic regulation genes by carbohydrates. *FASEB J* 1994; 8: 28-35.
10. Van Schaftingen E, Vandercammen A, Dethieux M, Davies DR. The regulatory protein of liver glucokinase. *Adv Enzyme Regul* 1992; 32: 133-48.
11. Doiron B, Cuif MH, Kahn A, Diaz-Guerra MJM. Respective roles of glucose, fructose and insulin on the regulation of the liver-specific pyruvate kinase gene promoter. *J Biol Chem* 1994; 269: 10213-6.
12. Marie S, Diaz-Guerra MJM, Miquerol L, Kahn A, Iynedjian PB. The pyruvate kinase gene as a model for studies of glucose-dependent regulation of gene expression in the endocrine pancreatic B-cell-type. *J Biol Chem* 1993; 268: 23881-90.
13. Doiron B, Cuif MH, Chen R, Kahn A. Transcriptional glucose signaling through the glucose response element is mediated by the pentose phosphate pathway *J Biol Chem* 1996 (sous presse).
14. Nishimura M, Uyeda K. Purification and characterisation of a novel xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase catalyzing dephosphorylation of fructose-6-phosphate, 2-kinase: fructose-2,6-bisphosphatase. *J Biol Chem* 1995; 270: 26341-6.
15. Lefrançois-Martinez AM, Diaz-Guerra MJM, Vallet V, Kahn A, Antoine B. Glucose-dependent regulation of the L-pyruvate kinase gene in a hepatoma cell line is independent of insulin and cyclic AMP. *FASEB J* 1994; 8: 89-96.