

Mécanisme d'action des Récepteurs Nucléaires « adoptés »

## Mécanisme d'action des Récepteurs Nucléaires « adoptés » : comment les lipides alimentaires modulent-ils la transcription des gènes ?

Activation mechanism of «adopted» nuclear receptors: how do dietary lipids control gene transcription?

**Kevin MOUZAT<sup>1,2,3,4,\*</sup> et Jean-Marc A. LOBACCARO<sup>1,2,3,4</sup>**

(1) Clermont Université, UMR « Génétique, Reproduction et Développement » ;

(2) CNRS UMR 6247 ;

(3) INSERM U 931 ;

(4) Centre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne ;

24 avenue des Landais, 63177 Aubière, France

\*Actuellement Assistant Hospitalier Universitaire, Service de Biochimie CHU Nîmes et Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.

Adresser toutes correspondances à : Pr. Jean-Marc A. Lobaccaro, « LXR, oxystérols et tissus stéroïdogènes », UMR CNRS 6247, INSERM U 931, Clermont-Université, 24 avenue des Landais, 63177 AUBIERE Cedex, France. Tel: (33) 473 40 74 16 ; Fax: (33) 473 40 70 42 ; Email : j-marc.lobaccaro@univ-bpclermont.fr

### Résumé :

Les récepteurs nucléaires sont des facteurs de transcription inductibles par la fixation d'un ligand habituellement lipophile. On peut schématiquement définir trois classes fonctionnelles dans cette superfamille : les récepteurs des hormones stéroïdiennes, les récepteurs nucléaires « adoptés » de dérivés des lipides alimentaires, dont la découverte a précédé celle de leur ligand, et les récepteurs nucléaires orphelins, dont aucun ligand n'est actuellement connu. Dans cette revue, qui s'intéresse particulièrement aux récepteurs nucléaires « adoptés », nous décrivons dans un premier temps leur structure biochimique, puis dans un second temps leur mécanisme d'action. Cet article permet ainsi de comprendre comment les dérivés des lipides alimentaires permettent de moduler l'initiation de la transcription de leurs gènes cibles et constitue une base dans la compréhension des futurs enjeux des laboratoires visant à comprendre leurs implications dans les pathologies humaines et éventuellement les utiliser comme cibles thérapeutiques potentielles.

### Abstract:

Nuclear receptors are ligand-inducible transcription factors mainly activated by lipophilic signals. This superfamily can be schematically divided into three functional categories: steroid hormone receptors, "adopted" nuclear receptors, discovered before their ligand, which are dietary lipids derivatives, and orphan nuclear receptors, whose ligand is still unknown. In this review, concerning particularly "adopted" nuclear receptors, we first focused on their biochemical structure, then on their activating mechanism. Indeed, this article provides insights on how dietary lipid derivatives can modulate gene transcription and serves as a starting point in the understanding of many laboratories issues concerning these receptors implication in human pathologies and eventually using them as potential therapeutic targets.

### 1. Généralités sur les récepteurs nucléaires

Les récepteurs nucléaires (NRs ; *Nuclear Receptors*) sont des facteurs de transcription potentiellement activables par un signal habituellement lipophile. La nature des ligands leur permet de franchir facilement les membranes cellulaires, même si des transporteurs membranaires ont parfois été décrits et d'activer leurs récepteurs dont la localisation est intra-cellulaire. Les NRs sont largement répandus dans le règne animal et semblent être apparus tôt dans l'évolution des métazoaires (Escriva *et al.* 1997). Actuellement, 48 NRs ont été identifiés chez l'homme. D'un point de vue fonctionnel, on peut définir trois classes de récepteurs nucléaires : les récepteurs endocriniens ayant un ligand de forte affinité, les récepteurs nucléaires orphelins « adoptés » possédant un ligand de faible affinité et les récepteurs nucléaires orphelins, pour lesquels aucun ligand naturel n'a encore été identifié à ce jour (figure 1 ; Chawla *et al.* 2001).

	Récepteurs endocriniens	Récepteurs orphelins « adoptés »	Récepteurs orphelins
Ligand	Hormones stéroïdiennes Haute affinité	Lipides alimentaires Faible affinité	Inconnus
	ER $\alpha, \beta$ PR AR GR MR	RXR $\alpha, \beta, \gamma$ PPAR $\alpha, \beta, \gamma$ LXR $\alpha, \beta$ FXR PXR / SXR CAR	SF-1 LRH-1 DAX-1 SHP TLX PNR NGFI-B $\alpha, \beta, \gamma$ ROR $\alpha, \beta, \gamma$ ERR $\alpha, \beta, \gamma$ RVR $\alpha, \beta, \gamma$ GCNF TR 2,4 HNF-4 COUP-TF $\alpha, \beta, \gamma$
	RAR $\alpha, \beta, \gamma$ TR $\alpha, \beta$ VDR		

**Figure 1 : Classification fonctionnelle des 48 récepteurs nucléaires humains**

Les récepteurs sont organisés en trois catégories en fonction de leur capacité à fixer un ligand. Les récepteurs endocriniens, dont les ligands sont majoritairement des hormones stéroïdiennes, lient leur ligand avec une haute affinité. Les récepteurs nucléaires orphelins « adoptés », dont les ligands identifiés sont dérivés des lipides alimentaires, ont une affinité relative faible pour les ligands. Les ligands des récepteurs nucléaires orphelins sont encore inconnus à ce jour. AR : *Androgen Receptor* ; CAR : *Constitutive Androstane Receptor* ; COUP-TF : *Chicken Ovalbumin Upstream Promoter-Transcription Factor* ; DAX-1 : *Dosage-sensitive sex reversal-Adrenal hypoplasia congenita critical region on the X chromosome, gene 1* ; ER : *Estrogen Receptor* ; ERR : *Estrogen-Related Receptor* ; FXR : *Farnesoid X Receptor* ; GCNF : *Germ Cell Nuclear Factor* ; GR : *Glucocorticoid Receptor* ; HNF-4 : *Hepatocyte Nuclear Factor 4* ; LRH-1 : *Liver Receptor Homolog-1* ; LXR : *Liver X Receptor* ; MR : *Mineralocorticoid Receptor* ; NGFI-B : *Nerve Growth Factor IB-like receptor* ; PNR : *Photoreceptor-specific Nuclear Receptor* ; PPAR : *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* ; PR : *Progesterone Receptor* ; PXR / SXR : *Pregnane X Receptor / Steroid and Xenobiotic Receptor* ; RAR : *Retinoic Acid Receptor* ; ROR : *RAR-related Orphan Receptor* ; RXR : *Retinoid X Receptor* ; SF-1 : *Steroidogenic Factor-1* ; SHP : *Small Heterodimer Partner* ; TLX : *Tailless homolog* ; TR : *Thyroid Hormone Receptor* ; TR2,4 : *Testicular orphan Receptor 2,4* ; VDR : *Vitamin D Receptor*. Adapté d'après Chawla *et al.* 2001.

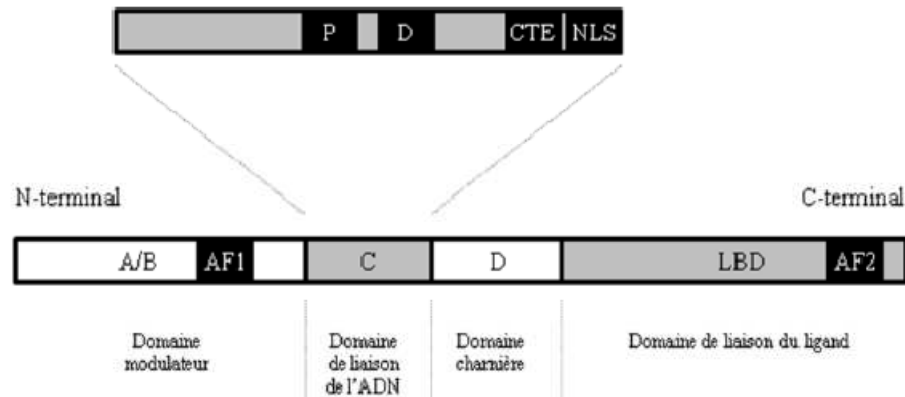
Le premier NR cloné a été celui des glucocorticoïdes en 1985 (Hollenberg *et al.* 1985). Entre 1985 et 1987, d'autres récepteurs ont été identifiés, notamment : ER (*Estrogen Receptor*), PR (*Progesterone Receptor*) et TR (*Thyroid hormone Receptor* ; pour une revue, voir McKenna et O'Malley 2002). C'est l'observation de la forte homologie de séquence du domaine de liaison de l'ADN de tous ces récepteurs qui a permis l'identification de nouveaux gènes, dont le premier a été RAR $\alpha$  (*Retinoic Acid Receptor* ; Petkovich *et al.* 1987). Cette technique de criblage a été le point de départ du concept d'« endocrinologie inverse » décrit par Kliewer *et al.* (Kliewer *et al.* 1999), par lequel la découverte du gène codant le récepteur précède la découverte du ligand et de la fonction physiologique. Plusieurs récepteurs nucléaires sans ligand connu ont ainsi été découverts, baptisés « récepteurs nucléaires orphelins ». Depuis le clonage de ces récepteurs, plusieurs laboratoires ont centré leurs efforts sur l'identification de ligands de ces récepteurs. Ainsi, « l'adoption » récente de ces récepteurs a-t-elle permis de montrer leur rôle central en physiologie. En effet, la majorité d'entre eux sont activés par des dérivés des lipides alimentaires et contrôlent, par le biais de la transcription de gènes cibles, divers métabolismes, en particulier lipidique. Actuellement, certains NRs sont toujours considérés comme orphelins. Nous détaillerons dans cette revue principalement la structure et le mode d'action des NRs « adoptés ».

Le mode d'action des récepteurs nucléaires des hormones stéroïdes est le premier à avoir été décrit. Ces hormones sont synthétisées à partir du cholestérol et leur nature dépend de leur lieu de synthèse. Il existe 5 classes d'hormones stéroïdes activant chacune un récepteur différent : les androgènes, les glucocorticoïdes, les minéralocorticoïdes, les oestrogènes et les progestines. Schématiquement, en l'absence de ligand, ces NRs sont complexés à des protéines chaperonnes de type HSP (*Heat Shock Protein*), les maintenant à l'état inactif. La fixation du ligand, directement ou après transformation enzymatique, entraîne le départ des protéines HSP, la translocation nucléaire du récepteur et sa dimérisation. Le dimère formé se fixe ensuite au niveau de ses éléments de réponse spécifiques et induit la transcription de ses gènes cible. Les détails de ce mode d'action ne feront pas l'objet de cette revue.

Canoniquement, il est admis que les récepteurs des hormones non stéroïdiennes sont en permanence fixés sur leurs éléments de réponse dans les régions promotrices de leurs gènes cibles. En l'absence de ligand, le contact de co-répresseurs permet le maintien de la chromatine dans un état non permissif vis-à-vis de la transcription. L'entrée passive du ligand dans le noyau et sa fixation sur son récepteur induit l'initiation de la transcription des gènes cibles. Ces récepteurs peuvent agir sous forme d'homodimère, d'hétérodimère avec le partenaire obligatoire RXR (*Retinoid X Receptor*, récepteur de l'acide rétinoïque 9-*cis*) ou bien de monomère. Les récepteurs dimériques peuvent se fixer sur des éléments de réponse ADN définis comme des répétitions directes (*Direct Repeat* ; DR), des palindromes (*Indirect Repeat* ; IR) ou des palindromes inversés (*Everted Repeat* ; ER ; Glass 1994).

## 2. Structure biochimique des NRs.

D'un point de vue structural, la majorité des NRs sont constitués de quatre domaines fonctionnellement indépendants (Figure 2 ; Pour une revue, voir Volle *et al.* 2005).



**Figure 2: Représentation schématique d'un récepteur nucléaire.**

La structure biochimique des récepteurs nucléaires peut schématiquement être scindée en quatre domaines fonctionnels. Le domaine modulateur (A/B) porte une fonction activatrice AF1 (*Activating Function 1*). Le domaine de liaison à l'ADN (D ; DBD : *DNA Binding Domain*) comporte une boîte proximale (P), une boîte distale (D), éventuellement une extension carboxy-terminale (CTE : *Carboxy-Terminal Extension*) et le signal de localisation nucléaire (NLS : *Nuclear Localization Signal*). Le domaine charnière (D) est impliqué dans le contact des co-répresseurs. Le rôle du domaine de liaison du ligand (LBD : *Ligand Binding Domain*) est crucial, puisque son activation par la fixation d'un agoniste permet le contact des co-activateurs *via* sa fonction AF

### 2.1. Le domaine N-terminal (domaine A/B)

Ce domaine, également appelé domaine modulateur ou domaine A/B, est le plus variable dans la superfamille des NRs aussi bien en longueur qu'en séquence. Ce domaine porte une fonction activatrice AF1 (*Activating Function 1*) qui est dépendante du contexte cellulaire. Il est à noter qu'il n'existe pas de séquence consensus définissant l'AF1 des différents NRs.

### 2.2. Le domaine de liaison à l'ADN (domaine C)

Ce domaine, qui confère la possibilité aux NRs de reconnaître leurs séquences spécifiques cibles sur l'ADN, présente une homologie de séquence dans la superfamille. C'est sur la base de cette homologie qu'ont été clonés la majorité des récepteurs nucléaires dès le début des années 1990. Ce domaine définit également en partie l'appartenance à la superfamille des NRs.

Ce domaine (DBD ; *DNA Binding Domain*) est caractérisé par la présence de deux doigts de zinc de type C<sub>2</sub>C<sub>2</sub>. Dans chaque doigt, la disposition de quatre cystéines invariables permet la chélation d'un ion de zinc. Le DBD possède une taille de 66 à 70 acides aminés. Il est composé de deux hélices alpha et sa séquence protéique est riche en acides aminés basiques (Aranda et Pascual 2001 ; Schwabe *et al.* 1990). On peut à l'intérieur du DBD définir quatre sous-domaines :

#### ➤ La boîte P (*P box*, boîte proximale)

Cette région est portée par le premier doigt de zinc. C'est elle qui est impliquée dans la reconnaissance du demi-site de l'élément de réponse, dont la séquence canonique est AGA/GTCA (Giguere 1999). Pour les récepteurs monomériques, le demi-site est flanqué de séquences riches en A/T en 5'. Elle est composée de trois acides aminés (EGCKG). Des expériences de mutagenèse dans la boîte P permettent d'interchanger la spécificité de reconnaissance de l'élément de réponse de GR et ER (Zilliaccus *et al.* 1994).

#### ➤ La boîte D (*D box* ; boîte distale ou de dimérisation)

Ce sous-domaine, situé dans le second doigt de zinc, définit l'écartement entre les deux demi-sites de l'élément de réponse sur l'ADN. Cette partie du DBD définit aussi le caractère homodimérique ou hétérodimérique du récepteur nucléaire. Aumais *et al.* (Aumais *et al.* 1996) ont proposé un modèle selon lequel le domaine de dimérisation présent dans le DBD des récepteurs nucléaires des hormones stéroïdes est responsable d'une plus forte affinité de l'homodimère pour des éléments de réponse de type palindromiques (IR) plutôt que pour des éléments de type répétition directe. La boîte D n'est donc impliquée que dans la fixation sur des éléments de réponse de type IR (Glass 1994).

#### ➤ L'extension carboxy-terminale (CTE)

Cette région de 25 acides aminés, située en C-terminal du second doigt de zinc, permet l'interface protéine / protéine et protéine / ADN, notamment par la reconnaissance des régions riches en A/T en 5' des éléments de réponse des NRs monomériques (Giguere 1999). Toutefois, tous les récepteurs nucléaires ne possèdent pas cette extension carboxy-terminale.

□ Le signal de localisation nucléaire (NLS)

Ce signal de transfert nucléaire est une succession de 5 à 6 acides aminés basiques riches en arginines et lysines. Bien que ce signal soit constitutivement actif, le transport nucléaire du récepteur est dépendant de l'énergie.

2.3. *Le domaine charnière (hinge ; domaine D) :* Ce domaine est variable à la fois en séquence primaire et en longueur. Cette région constitue la charnière entre le DBD et le LBD du récepteur. Elle permettrait une rotation de 180° du LBD pour permettre la fixation du dimère de récepteurs sur des éléments de réponse de type DR ou IR. Le rôle principal du domaine charnière est le contact de co-répresseurs en l'absence de ligand, maintenant la transcription inactive (Horlein *et al.* 1995 ; Chen et Evans 1995).

2.4. *Le domaine C-terminal : le domaine de liaison du ligand (LBD)*

Ce domaine multifonctionnel est très documenté. Il est le siège de plusieurs fonctions notamment :

□ La liaison du ligand

Malgré une grande variabilité dans la séquence primaire du LBD, les analyses cristallographiques montrent que tous les LBD ont une structure tridimensionnelle identique. Ils sont composés de 11 à 13 hélices alpha arrangées en trois couches avec deux «  $\beta$ -turns ». Il faut noter un motif présent sur l'hélice H4 qui permet également de définir l'appartenance à la superfamille. L'organisation structurale du LBD définit ainsi une poche hydrophobe dans laquelle le ligand de nature lipophile peut venir se fixer. L'étude cristallographique comparant les structures de RXR $\alpha$  en l'absence de son ligand (Bourguet *et al.* 1995) et RAR $\gamma$  en présence de son ligand a montré le rôle primordial de la fonction AF-2 (*Activating function 2*) portée par l'hélice 12 (Renaud *et al.* 1995). En l'absence de ligand, l'hélice 12 est orientée vers l'extérieur du LBD. La liaison de l'hormone permet le réarrangement des hélices 10 et 11 en une hélice unique, ce qui a pour conséquence de libérer l'hélice 12 de son contact avec la boucle  $\Omega$  (entre les hélices 2 et 3). L'hélice 12 se réaligne ainsi contre la poche hydrophobe de liaison du ligand, agissant ainsi comme un « couvercle » qui scelle la poche en renforçant les interactions entre le ligand et le LBD. Ce modèle est décrit comme le modèle « mouse trap » (modèle du piège à souris).

□ La dimérisation

Le LBD des NRs est primordial pour permettre la dimérisation. Tous les récepteurs nucléaires ne possèdent pas de boîte D fonctionnelle dans le DBD, mais tous ceux qui forment des dimères sont liés par leur LBD. Mangelsdorf et Evans (Mangelsdorf et Evans 1995) ont décrit un modèle de dimérisation en deux étapes pour les hétérodimères impliquant RXR : en premier lieu les deux partenaires hétérodimérisent en solution par leur LBD. C'est dans un deuxième temps que l'hétérodimère ainsi formé va reconnaître ses éléments de réponse sur l'ADN. Ce modèle n'a, à ce jour, jamais été validé expérimentalement.

□ Le contrôle du mode d'action des récepteurs des hormones stéroïdes

Le LBD des récepteurs nucléaires des hormones stéroïdes est également responsable de trois fonctions primordiales dans leur mode d'action : l'interaction avec les protéines HSP en l'absence de ligand et la translocation nucléaire. Il faut noter que la liaison des protéines HSP avec le LBD protège le récepteur de la dégradation et le maintient dans une conformation permettant l'accueil du ligand (Georget *et al.* 2002).

### 3. Les éléments de réponse des NRs

Les éléments de réponse sont des éléments bipartites composés de deux séquences hexamériques appelées demi-sites. Ces séquences nucléotidiques forment des répétitions directes (DR), indirectes (IR, ou palindromes) ou inversées (ER) qui sont deux demi-sites séparés par une courte séquence nucléotidique variable (figure 3). L'identité des éléments de réponse peut être déterminée par :

- la séquence des demi-sites
- le nombre de paires de bases qui séparent les demi-sites
- l'orientation relative des motifs.

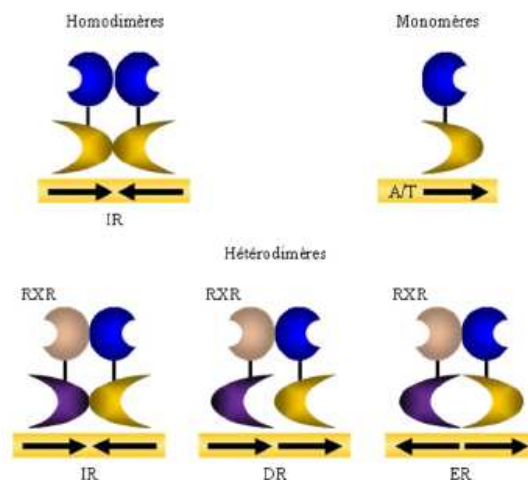


Figure 3 : Les différents éléments de réponse

Les récepteurs nucléaires des hormones stéroïdiennes se fixent généralement sur des éléments de réponse de type IR (*Inverted repeat*). Les récepteurs nucléaires hétérodimériques contactent le plus souvent des éléments de type DR (*Direct Repeat*) mais peuvent également se fixer sur des IR ou ER (*Everted Repeat*). Certains récepteurs nucléaires peuvent se fixer à l'ADN sous forme de monomère sur un unique demi-site précédé d'une séquence riche en A/T en 5'. Adapté d'après Aranda et Pascual 2001.

La superfamille des NRs peut être divisée en sous-groupes sur la base du profil de dimérisation :

- Les récepteurs des hormones stéroïdes se fixent généralement en homodimères sur des éléments de type IR3 (deux demi-sites organisés en palindromes et séparés par trois nucléotides). La séquence consensus du demi-site est AGAACA, à l'exception d'ER (AGGTCA). La cristallisation de GR (*Glucocorticoid Receptor*) et ER a montré une orientation tête à tête (Luisi *et al.* 1991 ; Schwabe *et al.* 1993) de l'homodimère. La modélisation de AR (*Androgen Receptor*) a montré une orientation identique (Lobaccaro *et al.* 1996).

- Les récepteurs qui forment des hétérodimères avec RXR contactent généralement des éléments de type DR1 à DR5. Le nombre de nucléotides détermine la spécificité du couple élément de réponse / hétérodimère. Les études cristallographiques ont montré une organisation en tête à queue (pour une revue, voir Germain *et al.* 2006).

- Enfin, les récepteurs nucléaires qui agissent sous forme de monomères contactent des éléments de réponse dont la séquence consensus est AGGTCA précédée d'une séquence riche en A/T en 5'.

Il est également à noter que certains récepteurs nucléaires peuvent se fixer sur des éléments de réponse de type ER ou IR, en plus de leur DR canonique, notamment TR, RAR, VDR (*Vitamin D Receptor*). La capacité des hétérodimères à reconnaître un ER, un IR ou un DR implique que le DBD doit avoir une flexibilité de rotation par rapport au LBD (Mangelsdorf et Evans 1995).

#### 4. Mode d'action des récepteurs nucléaires « adoptés »

##### 4.1. En l'absence de ligand : les co-répresseurs

Dans le mode d'action canonique de ces NRs, lorsqu'aucun ligand n'est présent au niveau du LBD, l'hétérodimère, formé par RXR et son partenaire, est constitutivement fixé sur ses éléments de réponse. Ainsi, à l'état inactif ces NRs agissent-ils comme des répresseurs de la transcription génique par le recrutement de co-répresseurs (Pour une revue, voir Lobaccaro *et al.* 2001). Les co-répresseurs les plus documentés sont N-CoR (*Nuclear Receptor Co-Repressor*) et SMRT (*Silencing Mediator for RAR and TR*). Ces deux protéines partagent 43 % d'identité en acides aminés. L'interaction de ces co-répresseurs avec les NRs se fait au niveau de motifs « CoRNR » ou ID (*Interacting Domain*) situés en position C-terminale du co-répresseur, dont la séquence consensus est : I/LXXI/VI (Hu *et al.* 2001). Par des motifs situés en position N-terminale, le co-répresseur contacte à la fois directement et indirectement des histones déacétylases (HDAC) *via* des protéines de type Sin3 Hu et Lazar 2000 ; Lazar 2003). Les activités HDAC maintiennent la chromatine dans un état de condensation non permissif pour la transcription génique.

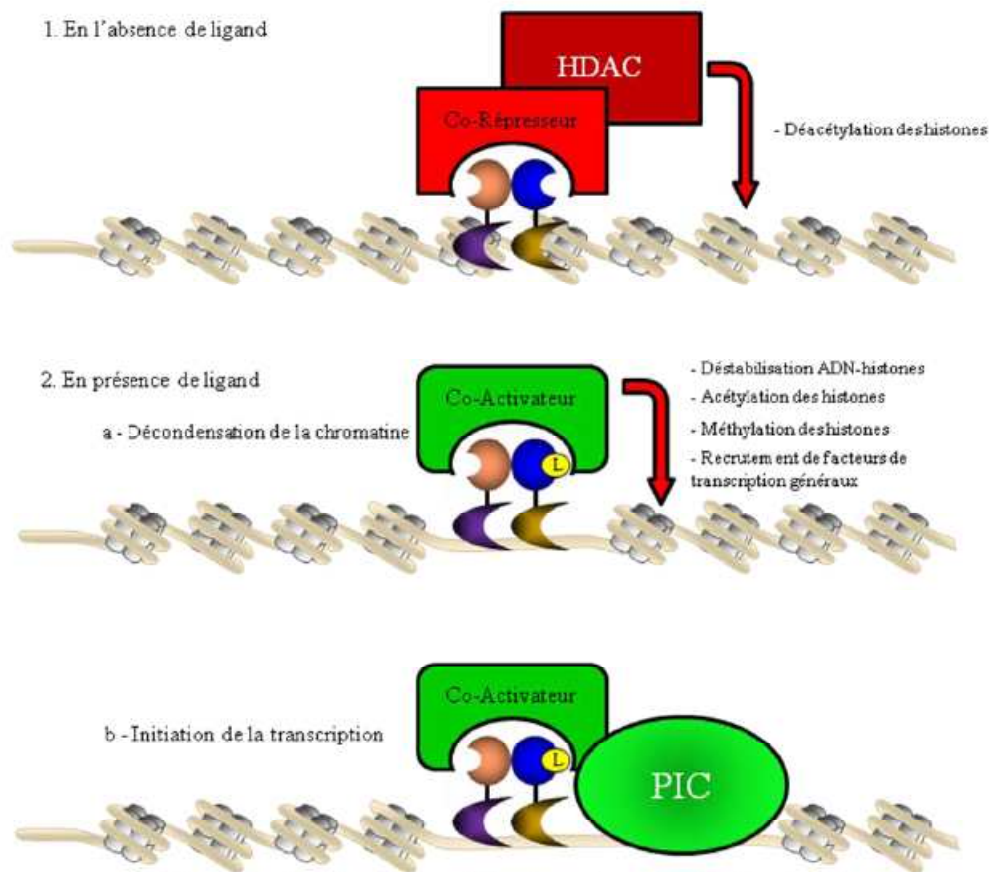
Lorsqu'il n'y a pas de ligand, la présence constitutive sur les éléments de réponse des complexes RXR/partenaire-Co-répresseur-HDAC agit comme un répresseur basal de l'expression génique. Par exemple, pour plusieurs gènes cibles de l'hétérodimère RXR/LXR, chez les souris pour lesquelles les gènes codant les LXRs  $\alpha$  et  $\beta$  ont été invalidés (*lrx $\alpha$* ; *lrx $\beta$* ), on assiste à une levée de la répression basale de ces gènes cibles comme pour *akr1b7* (*aldo-keto-reductase 1b7*; Volle *et al.* 2004) ou *star* (*steroidogenic acute regulatory protein*; Cummins *et al.* 2006).

##### 4.2. En présence de ligand

De manière schématique, la fixation d'un agoniste du récepteur nucléaire dans sa poche de liaison du ligand provoque le départ des co-répresseurs et la fixation de co-activateurs, qui créent un environnement chromatinien permissif pour la transcription. Au final, le recrutement du complexe de pré-initiation de la transcription entraîne l'activation de l'expression des gènes cibles (figure 4 ; Volle *et al.* 2005).

##### ➤ Les co-activateurs

Il existe un grand nombre de co-activateurs connus à ce jour. D'une manière générale, il est admis que la fixation du ligand au niveau du LBD place le domaine AF-2 dans un état d'affinité forte pour un motif pour les co-activateurs (Shiau *et al.* 1998). Le contact entre les deux partenaires passe par un motif du co-activateur appelé NR Box, dont la séquence est LXXLL (où L = Leucine et X = n'importe quel acide aminé ; Heery *et al.* 1997). Il est intéressant de noter que la séquence protéique de la NR Box est très proche de celle de la CoRNR des co-répresseurs (Hu *et al.* 2001).



**Figure 4 : Représentation schématique du mode d'action des récepteurs nucléaires « adoptés ».**

1 : En l'absence de ligand, l'hétérodimère RXR-partenaire est constitutivement fixé sur ses éléments de réponse situés dans les promoteurs de leurs gènes cibles. L'hétérodimère contacte alors des co-répresseurs responsables du recrutement de protéines à activité histone déacétylase (HDAC : *Histone Deacetylase*), bloquant la transcription génique. 2 (a) : La liaison d'un ligand (L) au LBD de son récepteur provoque le départ des co-répresseurs et le contact de co-activateurs, dont la nature diffère selon le contexte cellulaire. Leurs activités sont variables mais ont toutes pour conséquence de permettre un environnement chromatinien permissif pour la transcription. 2 (b) : Au final, la présence des co-activateurs provoque le recrutement du complexe de pré-initiation de la transcription (PIC : *Pre-initiation complex*) et la transcription du gène cible. Ce système permet donc une modulation de la transcription des gènes par les lipides alimentaires.

Nous aborderons dans cette revue quelques exemples de co-activateurs, classés en trois catégories selon leur fonction (McKenna et O'Malley 2002) :

#### Les facteurs remodelant la chromatine

Cette catégorie de co-activateurs est peu documentée. Ces facteurs sont capables d'hydrolyser l'ATP pour déstabiliser les interactions entre l'ADN et les histones, permettant ainsi un relâchement de la chromatine, facilitant l'accès à l'ADN par les facteurs de transcription. Parmi ces facteurs, la famille la plus connue est la famille SWI/SNF (*mating type switching/sucrose nonfermenting*). Ces facteurs agissent en complexe dont la sous-unité catalytique est toujours soit BRG-1 (*Brahma-Related Gene 1* ; hSNF2□) soit BRM (*Brahma* ; hSNF2□), agissant avec une dizaine de protéines associées (BAFs).

#### Les facteurs modifiant les histones

##### □ Les Histone acétyl-transférases (HAT)

Cette catégorie de co-activateurs est probablement la plus étudiée actuellement. Ces facteurs sont des protéines multi-modulaires et possèdent plusieurs activités. Il est de plus à noter que ces facteurs agissent en complexes protéiques importants. Il est donc difficile d'assimiler le mode d'action des NRs au simple fait que la fixation d'un ligand permet le recrutement d'un coactivateur et entraîne uniquement une acétylation des histones. Ainsi, l'activation d'un NRs par son ligand entraîne-t-elle le plus souvent de multiples effets au niveau de la chromatine. On peut notamment citer dans cette vaste catégorie les co-activateurs SRC-1 (ou NCOA1 : *Nuclear Receptor Coactivator 1*), GRIP-1 (*Glucocorticoid Receptor-Interacting Protein 1* ou TIF-2 : *Transcriptional Intermediary Factor 2* ; NCOA2 ; SRC-2), CBP/p300 (CBP : (*CREB-binding protein*), PGC1□ ou PPARGC1A : *PPAR-Gamma, Coactivator-1*) et TRRAP (*Transformation/Transcription Domain-Associated Protein*). Pour une liste complète des co-activateurs, voir NURSA : *The Nuclear Receptor Signaling Atlas*, [www.nursa.org](http://www.nursa.org).

##### □ Les facteurs affectant la méthylation des histones

Rap250 (*Nuclear Receptor-Activating Protein* ou NCOA6 ; ASC-2 : *Activating signal cointegrator 2*) : Caira *et al.* (Caira *et al.* 2000) ont identifié un facteur capable d'interagir avec de nombreux récepteurs nucléaires. Récemment, il

a été montré que Rap250 est recruté par l'activation de RAR $\alpha$ . Cette interaction permet le contact d'histones méthyltransférases, permettant la méthylation de l'histone H3 en position Lysine 4 (Lee *et al.* 2006). Cette méthylation est connue pour créer un environnement chromatinien permissif pour l'initiation de la transcription (Shilatifard 2006).

□ *Les facteurs qui s'associent aux facteurs de transcription généraux*

Le complexe TRAP/DRIP (*Thyroid Receptor-Associated Protein / Vitamin D Receptor Interacting Protein*) : Ce complexe est capable d'interagir directement avec l'ARN polymérase de type II et a un rôle important dans l'assemblage du complexe de pré-initiation de la transcription (Malik et Roeder 2005). Les deux facteurs TRAP220 et DRIP205 ont été décrits comme des co-facteurs de plusieurs récepteurs nucléaires, initialement TR et VDR respectivement, de manière dépendante de la présence du ligand (Aranda et Pascual 2001).

➤ L'activation transcriptionnelle des gènes cibles

Parmi les récepteurs nucléaires qui forment des hétérodimères avec RXR, on rencontre deux types d'hétérodimères (Aranda et Pascual 2001) :

Les hétérodimères non permissifs

Ce type de complexe ne peut pas être activé par le ligand de RXR. Seule la liaison d'un ligand au LBD du partenaire de RXR permet une transactivation des gènes cibles. Dans ce cas, RXR est qualifié de « partenaire silencieux ». Pour ce type d'hétérodimère, l'orientation est toujours identique : RXR occupe la position 5' sur l'élément de réponse tandis que son partenaire occupe la position 3'. On rencontre notamment dans cette catégorie les hétérodimères RXR/TR, RXR/VDR et RXR/RAR. Ce dernier couple présente toutefois une particularité. Alors que le ligand de RXR seul n'est pas capable d'activer l'hétérodimère, la liaison de l'acide rétinoïque tout *trans* au LBD de RAR autorise la fixation d'un ligand de RXR ce qui augmente la transactivation d'un gène placé sous le contrôle d'un élément de réponse à RAR (RARE ; Minucci *et al.* 1997). Shulman *et al.* (Shulman *et al.* 2004) qualifient ce dernier d'hétérodimère conditionnel. Un ligand de RXR particulier a été identifié. Le LG10074 agit comme un antagoniste de RXR dans un homodimère RXR/RXR et comme un agoniste dans un hétérodimère RAR/RXR (Lala *et al.* 1996). Ce ligand est également capable d'activer un hétérodimère PPAR $\alpha$ /RXR.

Les hétérodimères permissifs

A l'inverse, ce type de récepteurs nucléaires peut être activé à la fois par un ligand de RXR seul ou de son partenaire. L'orientation sur l'ADN de ces hétérodimères est différente : RXR occupe la position 3' et son partenaire la position 5'. On rencontre notamment parmi ces hétérodimères PPAR/RXR et FXR/RXR. Il existe toutefois une exception à cette orientation. Dans le complexe RXR/LXR, RXR est en 5' du LXRE et LXR en 3' (Willy et Mangelsdorf 1997). Cependant, en dépit de cette orientation inhabituelle, la fixation d'un ligand de RXR ou de LXR active le complexe. En présence des deux ligands, l'activation est additive voire synergique selon le gène cible considéré. Les auteurs soulèvent ainsi l'hypothèse que la permissivité d'un hétérodimère ne dépend pas de sa polarité sur l'élément de réponse mais du type de partenaires protéiques recrutés ainsi que de la séquence de l'élément de réponse.

Le mode d'action des LXRs est particulier. En effet, la mutation de la fonction AF2 de RXR ne perturbe pas l'activation de l'hétérodimère RXR/LXR par un ligand de RXR. En revanche, la mutation de l'AF2 de LXR abolit l'induction de gènes placés sous le contrôle d'un LXRE. Ces données montrent que la liaison d'un ligand de RXR à son LBD induit un changement de conformation allostérique de son partenaire LXR, impliquant la fonction AF2 de LXR et induisant l'expression génique. Cet effet est qualifié d'effet « *phantom ligand* ». En effet, la liaison d'un ligand de RXR à son LBD mime la fixation d'un ligand de LXR, qui se comporte comme un récepteur avec son ligand (Willy et Mangelsdorf 1997). Un effet similaire a été observé pour l'hétérodimère RXR/RAR (Schulman *et al.* 1997). Noter qu'un effet « *phantom ligand* » existe pour RXR/VDR (Bettoun *et al.* 2003). Dans ce cas, la fixation d'un ligand de VDR induit l'activation de RXR, qui acquiert la capacité à recruter plusieurs co-activateurs. Alors que l'hétérodimère RXR/VDR n'est pas capable d'initier la transcription d'un gène cible en réponse à un ligand de RXR, les auteurs complètent le mode d'action de RXR/VDR et montrent que RXR n'est pas silencieux mais est un acteur majeur de la transcription dépendante de la vitamine D3.

## Conclusion

**Initialement composée des seuls récepteurs liant les hormones stéroïdiennes, la superfamille des récepteurs nucléaires s'est élargie à d'autres récepteurs de signaux hydrophobes. Elle constitue à ce jour la famille la plus importante de protéines impliquées dans la transduction du signal du règne animal. Le challenge des prochaines années résidera dans l'identification de nouveaux ligands synthétiques capables de moduler l'activité des NRs, afin de :**

- déterminer l'ensemble des fonctions physiologiques contrôlées par les différents NRs
- analyser leurs rôles respectifs dans différentes pathologies humaines. A terme, une connaissance précise du mécanisme d'action des NRs et de leurs différents ligands des NRs permettra de les utiliser comme des cibles thérapeutiques d'avenir.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Aranda A. et Pascual A., *Nuclear hormone receptors and gene expression*. *Physiol Rev*, 2001. **81**(3): p. 1269-304.
2. Aumais J.P., Lee H.S., DeGannes C., Horsford J., et White J.H., *Function of directly repeated half-sites as response elements for steroid hormone receptors*. *J Biol Chem*, 1996. **271**(21): p. 12568-77.
3. Bettoun D.J., Burris T.P., Houck K.A., Buck D.W., 2nd, Stayrook K.R., Khalifa B., Lu J., Chin W.W., et Nagpal S., *Retinoid X receptor is a nonsilent major contributor to vitamin D receptor-mediated transcriptional activation*. *Mol Endocrinol*, 2003. **17**(11): p. 2320-8.
4. Bourguet W., Ruff M., Chambon P., Gronemeyer H., et Moras D., *Crystal structure of the ligand-binding domain of the human nuclear receptor RXR-alpha*. *Nature*, 1995. **375**(6530): p. 377-82.
5. Caira F., Antonson P., Pelto-Huikko M., Treuter E., et Gustafsson J.A., *Cloning and characterization of RAP250, a novel nuclear receptor coactivator*. *J Biol Chem*, 2000. **275**(8): p. 5308-17.
6. Chawla A., Repa J.J., Evans R.M., et Mangelsdorf D.J., *Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files*. *Science*, 2001. **294**(5548): p. 1866-70.
7. Chen J.D. et Evans R.M., *A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors*. *Nature*, 1995. **377**(6548): p. 454-7.
8. Cummins C.L., Volle D.H., Zhang Y., McDonald J.G., Sion B., Lefrancois-Martinez A.M., Caira F., Veysiere G., Mangelsdorf D.J., et Lobaccaro J.M., *Liver X receptors regulate adrenal cholesterol balance*. *J Clin Invest*, 2006. **116**(7): p. 1902-12.
9. Escriba H., Safi R., Hanni C., Langlois M.C., Saumitou-Laprade P., Stehelin D., Capron A., Pierce R., et Laudet V., *Ligand binding was acquired during evolution of nuclear receptors*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997. **94**(13): p. 6803-8.
10. Georget V., Terouanne B., Nicolas J.C., et Sultan C., *Mechanism of antiandrogen action: key role of hsp90 in conformational change and transcriptional activity of the androgen receptor*. *Biochemistry*, 2002. **41**(39): p. 11824-31.
11. Germain P., Staels B., Dacquet C., Spedding M., et Laudet V., *Overview of nomenclature of nuclear receptors*. *Pharmacol Rev*, 2006. **58**(4): p. 685-704.
12. Giguere V., *Orphan nuclear receptors: from gene to function*. *Endocr Rev*, 1999. **20**(5): p. 689-725.
13. Glass C.K., *Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers, and heterodimers*. *Endocr Rev*, 1994. **15**(3): p. 391-407.
14. Heery D.M., Kalkhoven E., Hoare S., et Parker M.G., *A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors*. *Nature*, 1997. **387**(6634): p. 733-6.
15. Hollenberg S.M., Weinberger C., Ong E.S., Cerelli G., Oro A., Lebo R., Thompson E.B., Rosenfeld M.G., et Evans R.M., *Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA*. *Nature*, 1985. **318**(6047): p. 635-41.
16. Horlein A.J., Naar A.M., Heinzel T., Torchia J., Gloss B., Kurokawa R., Ryan A., Kamei Y., Soderstrom M., Glass C.K., et al., *Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor*. *Nature*, 1995. **377**(6548): p. 397-404.
17. Hu X. et Lazar M.A., *Transcriptional repression by nuclear hormone receptors*. *Trends Endocrinol Metab*, 2000. **11**(1): p. 6-10.
18. Hu X., Li Y., et Lazar M.A., *Determinants of CoRNR-dependent repression complex assembly on nuclear hormone receptors*. *Mol Cell Biol*, 2001. **21**(5): p. 1747-58.
19. Kliewer S.A., Lehmann J.M., et Willson T.M., *Orphan nuclear receptors: shifting endocrinology into reverse*. *Science*, 1999. **284**(5415): p. 757-60.
20. Lala D.S., Mukherjee R., Schulman I.G., Koch S.S., Dardashti L.J., Nadzan A.M., Croston G.E., Evans R.M., et Heyman R.A., *Activation of specific RXR heterodimers by an antagonist of RXR homodimers*. *Nature*, 1996. **383**(6599): p. 450-3.
21. Lazar M.A., *Nuclear receptor corepressors*. *Nucl Recept Signal*, 2003. **1**: p. e001.
22. Lee S., Lee D.K., Dou Y., Lee J., Lee B., Kwak E., Kong Y.Y., Lee S.K., Roeder R.G., et Lee J.W., *Coactivator as a target gene specificity determinant for histone H3 lysine 4 methyltransferases*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. **103**(42): p. 15392-7.
23. Lobaccaro J.M., Poujol N., Chiche L., Lumbroso S., Brown T.R., et Sultan C., *Molecular modeling and in vitro investigations of the human androgen receptor DNA-binding domain: application for the study of two mutations*. *Mol Cell Endocrinol*, 1996. **116**(2): p. 137-47.
24. Lobaccaro J.M., Repa J.J., Lu T.T., Caira F., Henry-Berger J., Volle D.H., et Mangelsdorf D.J., *[Regulation of lipid metabolism by the orphan nuclear receptors]*. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2001. **62**(3): p. 239-47.
25. Luisi B.F., Xu W.X., Otwinowski Z., Freedman S., Brown T.R., et Sultan C., *Crystallographic analysis of the interaction of the glucocorticoid receptor with DNA*. *Nature*, 1991. **352**(6335): p. 497-505.
26. Malik S. et Roeder R.G., *Dynamic regulation of pol II transcription by the mammalian Mediator complex*. *Trends Biochem Sci*, 2005. **30**(5): p. 256-63.
27. Mangelsdorf D.J. et Evans R.M., *The RXR heterodimers and orphan receptors*. *Cell*, 1995. **83**(6): p. 841-50.
28. McKenna N.J. et O'Malley B.W., *Minireview: nuclear receptor coactivators--an update*. *Endocrinology*, 2002. **143**(7): p. 2461-5.
29. Minucci S., Leid M., Toyama R., Saint-Jeannet J.P., Peterson V.J., Horn V., Ishmael J.E., Bhattacharyya N., Dey A., Dawid I.B., et Ozato K., *Retinoid X receptor (RXR) within the RXR-retinoic acid receptor heterodimer binds its ligand and enhances retinoid-dependent gene expression*. *Mol Cell Biol*, 1997. **17**(2): p. 644-55.
30. Petkovich M., Brand N.J., Krust A., et Chambon P., *A human retinoic acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors*. *Nature*, 1987. **330**(6147): p. 444-50.
31. Renaud J.P., Rochel N., Ruff M., Vivat V., Chambon P., Gronemeyer H., et Moras D., *Crystal structure of the RAR-gamma ligand-binding domain bound to all-trans retinoic acid*. *Nature*, 1995. **378**(6558): p. 681-9.
32. Schulman I.G., Li C., Schwabe J.W., et Evans R.M., *The phantom ligand effect: allosteric control of transcription by the retinoid X receptor*. *Genes Dev*, 1997. **11**(3): p. 299-308.
33. Schwabe J.W., Chapman L., Finch J.T., et Rhodes D., *The crystal structure of the estrogen receptor DNA-binding domain bound to DNA: how receptors discriminate between their response elements*. *Cell*, 1993. **75**(3): p. 567-78.
34. Schwabe J.W., Neuhaus D., et Rhodes D., *Solution structure of the DNA-binding domain of the oestrogen receptor*. *Nature*, 1990. **348**(6300): p. 458-61.
35. Shiau A.K., Barstad D., Loria P.M., Cheng L., Kushner P.J., Agard D.A., et Greene G.L., *The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen*. *Cell*, 1998. **95**(7): p. 927-37.
36. Shilatifard A., *Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression*. *Annu Rev Biochem*, 2006. **75**: p. 243-69.
37. Shulman A.I., Larson C., Mangelsdorf D.J., et Ranganathan R., *Structural determinants of allosteric ligand activation in RXR heterodimers*. *Cell*, 2004. **116**(3): p. 417-29.
38. Volle D.H., Frenoux J.M., Mouzat K., Vernet P., Prod'homme M., Britan A., Saez F., Henry-Berger J., Kocer A., Caira F., Veysiere G., Drevet J.R., et Lobaccaro J.M., *Rôle des récepteurs nucléaires des oxystérols LXR dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol au niveau de l'appareil reproducteur mâle*. *Andrologie*, 2005. **15**(2): p. 151-159.
39. Volle D.H., Repa J.J., Mazur A., Cummins C.L., Val P., Henry-Berger J., Caira F., Veysiere G., Mangelsdorf D.J., et Lobaccaro J.M., *Regulation of the aldo-keto reductase gene *akr1b7* by the nuclear oxysterol receptor LXRalpha (liver X receptor-alpha) in the mouse intestine: putative role of LXRs in lipid detoxification processes*. *Mol Endocrinol*, 2004. **18**(4): p. 888-98.
40. Willy P.J. et Mangelsdorf D.J., *Unique requirements for retinoid-dependent transcriptional activation by the orphan receptor LXR*. *Genes Dev*, 1997. **11**(3): p. 289-98.
41. Zilliacus J., Carlstedt-Duke J., Gustafsson J.A., et Wright A.P., *Evolution of distinct DNA-binding specificities within the nuclear receptor family of transcription factors*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994. **91**(10): p. 4175-9.