

Polymorphismes génétiques de l'adiponutrine et stéatose hépatique

Sylvain Baulande

PartnerChip, Institut de Génomique-CEA,
Bâtiment G2,
2, rue Gaston Crémieux, 91000 Évry, France.
Sylvain.baulande@cea.fr

Épidémiologie des stéatoses hépatiques non alcooliques

Les stéatoses hépatiques non alcooliques (NAFLD, *non alcoholic fatty liver disease*) sont les maladies du foie les plus fréquentes dans les pays industrialisés. Elles correspondent à un déséquilibre du métabolisme glucido-lipidique de l'organisme aboutissant à une accumulation de triglycérides dans le foie [1]. Bien que souvent asymptomatique, cette accumulation peut entraîner une réponse inflammatoire appelée stéatohépatite non alcoolique (NASH, *non alcoholic steatohepatitis*) qui favorise l'apparition d'une cirrhose et de cancers du foie [2].

Les NAFLD sont très souvent associées à un syndrome métabolique (obésité, diabète et hyperlipidémie) [3]. En effet, dans l'organisme, c'est le tissu adipeux qui est en charge du stockage des triglycérides afin d'éviter leur accumulation dans le foie et les autres organes métaboliquement actifs [4]. Cependant, la capacité de stockage de ce réservoir physiologique varie fortement suivant les individus. L'étiologie de la stéatose hépatique est encore inconnue, néanmoins sa prévalence varie avec l'origine ethnique des individus, ce qui suggère l'existence d'une prédisposition génétique. Ainsi aux États-Unis, les Hispaniques sont les plus touchés par la maladie (45 % des cas de NAFLD) alors que les Américains d'origine européenne et les Afro-Américains sont moins souvent affectés (respectivement 33 % et 24 %) [5].

Variants génétiques de l'adiponutrine et taux de triglycérides hépatiques

Dans le but de mettre en évidence des facteurs génétiques liés à la stéa-

tose hépatique, une équipe américaine a mené une étude d'association génétique à partir d'une cohorte de 2 000 patients américains (*Dallas Heart Study*) composée à la fois d'individus hispaniques, euro-américains et afro-américains [6]. Une quantification précise du taux de graisse hépatique a été réalisée chez tous les individus par la technique non-invasive de spectroscopie par résonance magnétique (SRM). Une collection de polymorphismes (SNP) non synonymes couvrant le génome entier a été testée à l'aide d'une technologie de génotypage haute densité sur puces à ADN. Les résultats de cette étude, publiés dans *Nature Genetics* [5], démontrent une association très forte entre la quantité de triglycérides hépatiques et 2 variants génétiques situés dans le gène *PNPLA3*, codant pour l'adiponutrine, une protéine d'expression adipocytaire [7].

Le premier variant (rs738409, C → G) induit un changement d'acide aminé dans la protéine en position 148 où une méthionine remplace une isoleucine (I148M). Cette association entre variant rs738409 et stéatose persiste même après ajustement pour les facteurs de risque de la stéatose hépatique que sont l'obésité, l'insulino-résistance ou encore le taux plasmatique de triglycérides [6]. De plus, comme les hispaniques sont plus enclins à développer une réponse inflammatoire hépatique et une cirrhose, l'association entre le variant rs738409 et le taux de transaminases circulantes (ASAT et ALAT) a aussi été testée et démontrée au sein de ce groupe [6]. Il apparaît donc très clairement que ce polymorphisme est un facteur génétique

majeur associé à la stéatose hépatique non alcoolique et à sa complication inflammatoire, la stéatohépatite.

À l'inverse, l'association avec un taux bas de triglycérides hépatiques a aussi été observée pour un autre SNP (rs6006460, G → T) changeant une sérine en isoleucine en position 453 (S453I) de la séquence de l'adiponutrine. Ces 2 variants du gène conditionnent le contenu en graisse de manière positive ou négative indiquant que la modulation fonctionnelle de cette protéine est impliquée dans la régulation du taux de triglycérides dans le foie [6].

Fréquences alléliques des variants dans les différentes populations

Dans chacune des 3 populations, les fréquences alléliques des 2 variants sont en accord avec la prévalence de la stéatose hépatique (*Figures 1A et 1B*). Le variant rs738409 est plus fréquent chez les hispaniques où le contenu en graisse hépatique est deux fois supérieur chez les homozygotes pour le variant G/G que chez ceux qui ont un génotype C/C (*Figure 1C*) [6]. Le variant rs6006460 est quant à lui plus de 10 fois plus fréquent chez les afro-américains, groupe le moins affecté par la maladie (*Figure 1A*). À eux deux, ces variants rendent compte de 72 % des différences inter-ethniques observées dans la quantité de triglycérides dans le foie, faisant de l'adiponutrine le facteur génétique majeur associé à la stéatose hépatique [6].

Fonctions de l'adiponutrine

Identifié en 2001, le gène de l'adiponutrine code pour une protéine

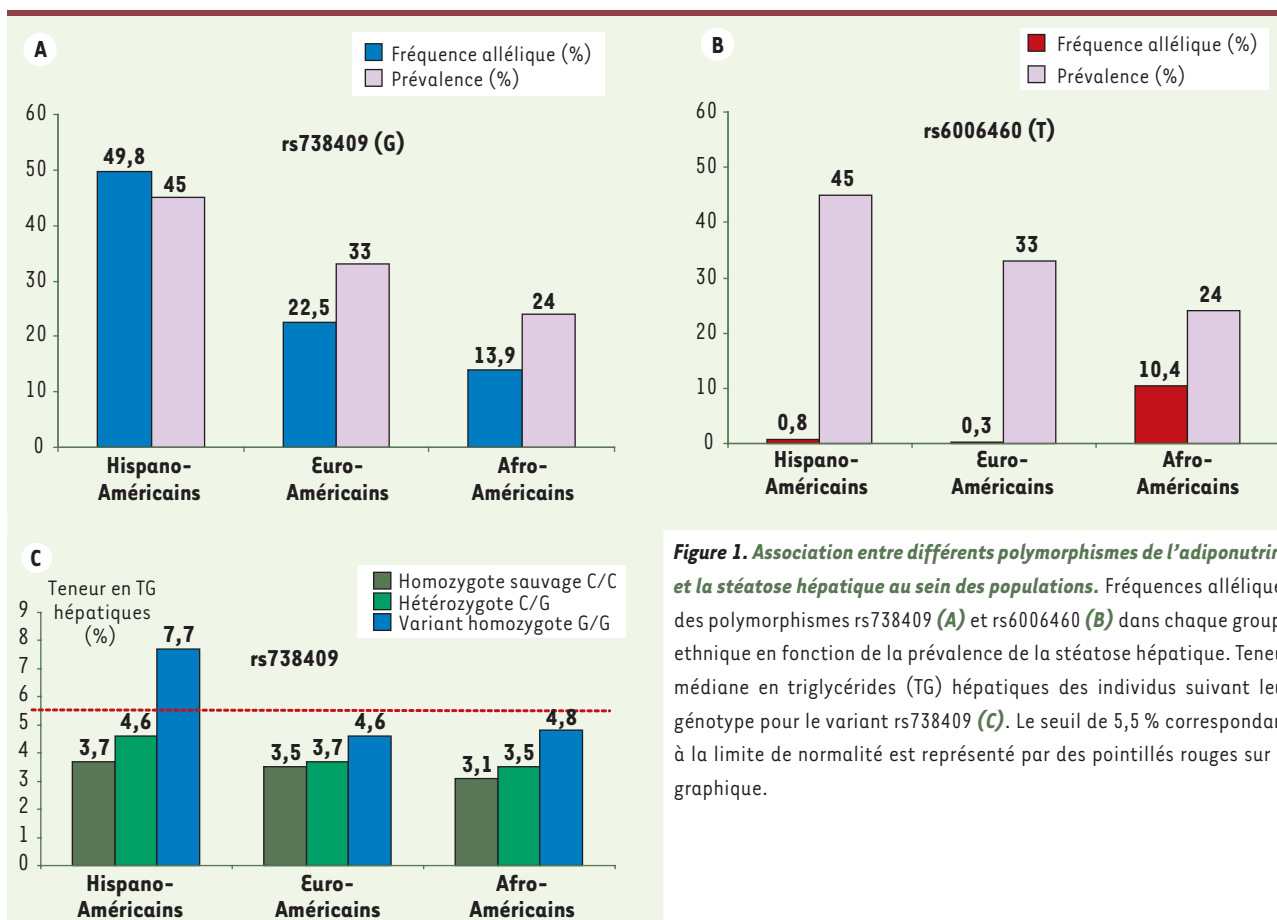


Figure 1. Association entre différents polymorphismes de l'adiponutrine et la stéatose hépatique au sein des populations. Fréquences alléliques des polymorphismes rs738409 (A) et rs6006460 (B) dans chaque groupe ethnique en fonction de la prévalence de la stéatose hépatique. Teneur médiane en triglycérides (TG) hépatiques des individus suivant leur génotype pour le variant rs738409 (C). Le seuil de 5,5 % correspondant à la limite de normalité est représenté par des pointillés rouges sur le graphique.

membranaire intracellulaire très spécifique du tissu adipeux [7, 8]. L'expression du gène est finement régulée par les conditions nutritionnelles, étant sous le contrôle étroit de l'insuline et du glucose, ce qui lui confère le statut de « marqueur » de l'état nutritionnel. En effet, son expression, indétectable à jeun, est très fortement induite en réponse à une prise alimentaire [7]. Que ce soit chez le patient obèse ou bien dans des modèles murins, son expression s'avère très perturbée dans un contexte physiopathologique d'obésité et d'insulino-résistance [7, 9]. Son mode de régulation dans le tissu adipeux est semblable à celui d'enzymes comme l'acétylcoA carboxylase (ACC), la *fatty acid synthase* (FAS) ou encore la stéaroyl-coA désaturase (SCD), impliqués dans la voie anabolique de synthèse des triglycérides. L'adiponutrine appartient à une famille d'enzymes récemment découverte chez

les mammifères arborant un domaine fonctionnel ancestral commun (*patatin-like phospholipase domain*) qui leur confère une activité de type lipase/transacylase (Figure 2) [10]. Même si l'adiponutrine a parfois été considérée comme une lipase en raison de son appartenance à cette famille fonctionnelle, les connaissances actuelles plaident plutôt en faveur de son activité transacylase favorisant la synthèse des triglycérides par transfert d'acides gras [11].

En plus du tissu adipeux, l'expression du gène a aussi été mise en évidence dans le foie [11]; ces deux tissus représentent les principaux organes lipogéniques de l'organisme. La découverte d'une association génétique entre l'adiponutrine et la stéatose hépatique renforce donc l'hypothèse d'une implication de l'enzyme dans le métabolisme des triglycérides même si des investigations complémentaires sont

nécessaires pour mieux cerner son rôle tant sur le plan physiologique que physiopathologique. ♦

Polymorphisms in adiponutrin gene and association to hepatic steatosis

RÉFÉRENCES

1. Robichon C, Girard J, Postic C. L'hyperactivité de la lipogénèse peut-elle conduire à la stéatose hépatique ? Implication du facteur de transcription ChREBP. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 841-6.
2. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006 ; 43 : S99-112.
3. Musso G, Gambino R, Bo S, et al. Should nonalcoholic fatty liver disease be included in the definition of metabolic syndrome? A cross-sectional comparison with adult treatment panel III criteria in nonobese nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 2008 ; 31 : 562-8.
4. Wang MY, Grayburn P, Chen S, et al. Adipogenic capacity and the susceptibility to type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 6139-44.
5. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004 ; 40 : 1387-95.
6. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008, 25 septembre online

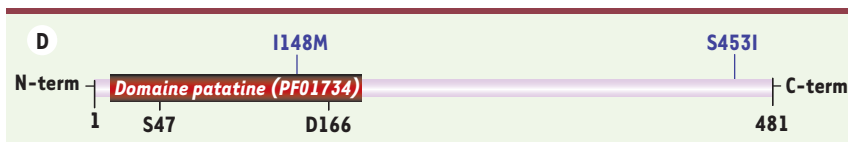


Figure 2. Structure protéique de l'adiponutrine. Le gène code pour une protéine de 481 acides aminés qui présente un domaine enzymatique à activité lipase/transacylase (domaine patatine, Pfam PF01734 : <http://pfam.sanger.ac.uk/family?acc=PF01734>). Il présente une dyade catalytique caractéristique entourée de 2 motifs consensus GXSXG (sérine en position 47) et DXG/A (aspartate en position 166). Les variants I148M et S453I sont indiqués en bleu.

7. Baulande S, Lasnier F, Lucas M, Pairault J. Adiponutrin, a transmembrane protein corresponding to a novel dietary- and obesity-linked mRNA specifically expressed in the adipose lineage. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 33336-44.

8. Baulande S, Fève B. Identification de nouveaux gènes associés à l'adipogénèse. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 151-4.

9. Moldes M, Beauregard G, Faraj M, et al. Adiponutrin gene is regulated by insulin and glucose in human adipose tissue. *Eur J Endocrinol* 2006 ; 155 : 461-8.

10. Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, et al. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 48968-75.

11. Lake AC, Sun Y, Li JL, et al. Expression, regulation, and triglyceride hydrolase activity of Adiponutrin family members. *J Lipid Res* 2005 ; 46 : 2477-87.

NOUVELLE

NO et hémoglobine Une longue histoire et quelques controverses

Dominique Labie

Département de génétique,
développement et pathologie moléculaire,
Institut Cochin,
24, rue du Faubourg Saint-Jacques,
75014 Paris, France.
labie@cochin.inserm.fr

Vasodilatation et libération de NO : le concept initial du rôle de la nitrosohémoglobine

La vasodilatation, accroissant le flux sanguin en réponse à l'hypoxie, est une réaction systémique connue depuis plus d'un siècle. On sait que cette vasodilatation a lieu au moment de la désoxygénation de l'hémoglobine (Hb) et qu'elle est corrélée à la saturation partielle de l'Hb en oxygène (O_2). Le concept a été énoncé que l'Hb elle-même exercerait cette régulation par une interaction avec le monoxyde d'azote (NO). Sur les modalités de cette interaction, J.S. Stamler a proposé dès 1996 et dans les années suivantes un mécanisme selon lequel NO était transporté par l'Hb, en se fixant sur le thiol du résidu Cys $\beta 93$, à proximité immédiate du site de fixation de l'hème, au niveau du coude FG, résidu conservé dans toutes les Hb fonctionnelles, et en formant la S-nitrosohémoglobine (SNOHb) [1-3] (Figure 1). En conditions d'hypoxie, le NO dissocié sortirait du globule rouge (GR) et

serait transféré au glutathion, permettant sa diffusion et son action vasodilatatrice. Les auteurs ont depuis confirmé la valeur de leur modèle et insisté sur le rôle majeur de la SNOHb, et une revue récente de J.S. Stamler mentionne à nouveau le fait que la vasodilatation est sous le contrôle d'un signal S-nitrosothiol [4]. La plupart des publications, cependant, sont centrées sur des processus physiopathologiques vasculaires et non plus sur le problème précis de l'interaction Hb/NO. Le mécanisme suggéré par J.S. Stamler a été extrêmement discuté, et, selon les travaux de deux équipes du NIH (*National Institutes of Health*), celles de M.T. Gladwin et de A.N. Schechter, la fixation de NO ne se fait qu'accessoirement sur la Cys $\beta 93$, mais essentiellement sur le Fer réduit (Fe^{2+}) de l'hème (NOHb), nitrosation par opposition à la nitrosylation de la Cys $\beta 93$ [5]. Pour le prouver, les auteurs ont en effet mis en évidence un gradient artérioveineux de nitrosyl(hème)Hb au niveau de l'avant-bras après inhalation de NO

par des volontaires. Un travail récent de l'équipe de Tim T. Townes (Université de Birmingham, Alabama, États-Unis) réalisé sur un modèle murin, confirme définitivement cette hypothèse [6]. Il se présente comme le complément de la recherche menée entre-temps par les équipes du NIH, qu'il convient de rappeler.

Contrôle du taux de NO vasculaire : globule rouge ou endothélium ?

Les auteurs s'opposent à l'hypothèse d'un rôle majeur joué par la Cys $\beta 93$ libérant NO par une activité « endocrine », et proposent une fixation du NO sur le fer de l'hème. Ils démontrent que cette fixation de NO est 100 fois supérieure sur la désoxyHb à ce qu'elle est sur l'oxyHb, et se produit extrêmement rapidement - de l'ordre de la milliseconde - sur le fer, alors qu'elle est lente sur la Cys $\beta 93$ [7]. Après inhalation de NO, on constate la formation de $\sim 80 \mu M$ de metHb (Fe^{3+}) par liaison à la désoxyHb, mais de seulement $1 \mu M$ de nitrosylHb (NOHb). On ne détecte