



REMERCIEMENTS

L'étude a été réalisée grâce aux financements suivants : ERC RNAME DTGS, MSD Avenir HIDEINFLAME&SEQ, l'Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les hépatites virales (ANRS) et Sidaction pour RK.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Barré-Sinoussi F. L'infection VIH/sida : l'histoire exemplaire d'une épidémie qui résiste. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 499-500.
2. Schwartz C, Le Douce V, Cherrier T, et al. Un virus tapi dans l'ombre : les bases moléculaires de la latence du VIH-1. Partie I : la physiologie de la latence du VIH-1. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 159-64.
3. Cherrier T, Le Douce V, Redel L, et al. Un virus tapi dans l'ombre : les bases moléculaires de la latence du VIH-1. Partie II : la réactivation de la latence du VIH-1 et ses implications thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 291-6.
4. Mbonye U, Karn J. The molecular basis for human immunodeficiency virus latency. *Annu Rev Virol* 2017 ; 4 : 261-85.
5. Wagshcal A, Rousset E, Basavarajaiah P, et al. Microprocessor, Setx, Xrn2 and Rrp6 co-operate to induce premature termination of transcription by RNAPII. *Cell* 2012 ; 150 : 1147-57.
6. Lykke-Andersen S, Tomecki R, Jenssen TH, et al. The eukaryotic RNA exosome: same scaffold but variable catalytic subunits. *RNA Biol* 2011 ; 8 : 61-6.
7. Contreras X, Salifou K, Sanchez G, et al. Nuclear RNA surveillance complexes silence HIV-1 transcription. *PLoS Pathog* 2018 ; 14 : e1006950.
8. Chavez L, Calvanese V, Verdin E. HIV latency is established directly and early in both resting and activated primary CD4 T cells. *PLoS Pathog* 2015 ; 11 : e1004955.

NOUVELLE

Le cholestérol cellulaire, un régulateur important de la douleur inflammatoire

Patrick Delmas¹, Françoise Padilla¹, Corinne Poilbout²

¹SomatoSens, Laboratoire de Neurosciences Cognitives, UMR 7291 CNRS, Aix-Marseille-Université, CS80011, boulevard Pierre Dramard, 13344 Marseille, France.

²Centre de Psychiatrie et Neurosciences, 102-108, rue de la Santé, 75014 Paris France.

patrick.delmas@univ-amu.fr

➤ Le cholestérol est probablement la molécule dont le nom est le plus familier du grand public. Il a été découvert au XVIII^e siècle par François Poulletier de La Salle dans des calculs biliaires (d'où son nom, *chole-* [bile] et *stereos* [solide]), mais c'est surtout pour son implication comme facteur de risque dans les maladies cardio-vasculaires qu'il est connu. L'on sait moins que c'est un précurseur de nombreuses molécules de l'organisme et un composant majeur des membranes cellulaires animales.

Dans l'étude que nous avons publiée [1], nous montrons que le cholestérol membranaire joue un rôle important dans la régulation du message nociceptif et de la douleur inflammatoire, et qu'il pourrait bien trouver une réhabilitation, comme antalgique topique.

Bon ou mauvais cholestérol ? Portrait-robot

Le cholestérol est un lipide de la famille des stérols ; c'est une molécule amphiphile, avec une partie hydro-

phile (ou tête polaire) et une partie hydrophobe (ou apolaire). Il est présent dans la totalité des tissus des vertébrés, en particulier dans le foie, le cerveau et la moelle épinière. Il est en grande partie d'origine endogène, environ 70 %, avec une synthèse essentiellement hépatique ; la part exogène étant issue de l'alimentation. C'est le foie qui est chargé de son élimination, d'où une nécessaire double circulation dans le corps, par voie sanguine. De par sa nature globalement hydrophobe, le cholestérol est insoluble dans le sang ; il est donc associé à des lipoprotéines pour son transport. Ces lipoprotéines sont classées selon leur densité : les LDL (*low-density lipoprotein*) emportent le cholestérol du foie vers les tissus périphériques et peuvent, en cas d'excès, former des plaques athérosclérotiques ; les HDL (*high-density lipoprotein*) permettent le transport centripète du cholestérol vers le foie pour son élimination [2]. C'est par simplification que l'on parle

donc de bon ou mauvais cholestérol, pour les taux sanguins de HDL vs LDL.

Le cholestérol dans les membranes cellulaires

Le cholestérol est impliqué dans la synthèse de nombreuses molécules stéroïdiennes [3] : les sels biliaires qui sont des dérivés polaires du cholestérol ; les hormones stéroïdiennes sexuelles, comme la progestérone, la testostérone et les œstrogènes ; les glucocorticoïdes (cortisone, cortisol) ; et les minéralocorticoïdes (aldostérone). Toutes ces molécules ont pour précurseur le cholestérol. Il en va de même de la vitamine D. Le cholestérol est donc un élément fondamental pour de nombreuses fonctions de régulation hormonale et du métabolisme.

La majorité du cholestérol est cependant cellulaire : il se trouve dans les membranes plasmiques où il représente 30 à 45 % des lipides. Grâce à ses propriétés amphiphiles, le cholestérol s'insère dans la bicouche lipidique des mem-

branes plasmiques où il s'associe aux sphingolipides et aux protéines transmembranaires de manière complexe et non homogène, pour former des microdomaines que l'on appelle les radeaux lipidiques [4]. Ces radeaux lipidiques ont une composition en lipides différente de celle de la bicouche environnante puisqu'ils contiennent 3 à 5 fois plus de cholestérol. En conséquence, ils ont une structure plus ordonnée et compacte que celle de la bicouche environnante. Ils agissent comme des plateformes qui ségrègent et régulent de nombreux composants membranaires de la signalisation cellulaire, comme les canaux ioniques et les récepteurs.

Il est actuellement acquis que la douleur issue de lésions inflammatoires est régulée par l'action pro- ou antinociceptive de médiateurs lipidiques. Pour autant, il y a peu d'informations quant au rôle du cholestérol dans la régulation de la nociception et de la douleur pathologique. Nous avons examiné si le cholestérol pouvait avoir un rôle particulier dans la genèse neurochimique de la douleur inflammatoire. Cette recherche est en effet indispensable pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques contre les douleurs chroniques.

Le cholestérol ségrège le canal Nav1.9 dans les radeaux lipidiques des nocicepteurs

Le canal Nav1.9 (isoforme 9 des canaux ioniques sélectifs aux ions sodium) est un acteur majeur des douleurs inflammatoires [5-7] et neuropathiques [8, 9] (→).

(→) Voir la Nouvelle de S. Lollignier, *m/s* n° 2, février 2016, page 162

Il est exprimé préférentiellement dans les neurones nociceptifs (également appelés nocicepteurs) qui ont pour fonction d'alerter l'individu en cas d'exposition à des agressions potentiellement nocives (températures extrêmes, piqûre, écrasement, venins, irritants, ischémie, etc.). Des mutations congénitales du gène codant le canal Nav1.9 ont ainsi été identifiées chez des patients

qui présentent des crises de douleur aiguës et une perception altérée de la douleur [10-12]. Nous avons montré que le cholestérol jouait le rôle d'une « colle » qui ségrège le canal Nav1.9 au sein des radeaux lipidiques de la membrane plasmique [1]. Fondé sur la résistance à la solubilisation par le détergent Triton X-100 (un détergent non ionique) et sur la co-localisation avec des marqueurs protéiques des radeaux lipidiques (comme la flotiline et la cavéoline), nous avons montré que les canaux Nav1.9 se concentrent dans les membranes résistantes aux détergents, indiquant une forte association avec les radeaux lipidiques. Nous avons également identifié, par une approche de spectroscopie par résonance plasmonique de surface, plusieurs domaines peptidiques sur la protéine Nav1.9 qui ont la capacité de lier les molécules de cholestérol, suggérant une interaction physique directe du cholestérol avec le canal Nav1.9. Il semble donc exister une relation entre présence de cholestérol et localisation préférentielle des canaux Nav1.9 dans les radeaux lipidiques.

L'inflammation réduit le cholestérol membranaire et active le canal Nav1.9

Nous avons mesuré les modifications locales du contenu en cholestérol dans la peau enflammée, suite à l'injection d'un agent pro-inflammatoire (la carraghénine) ou d'un mélange de médiateurs pro-inflammatoires. Les biopsies cutanées prélevées sur cette peau montrent, dans les deux cas, une réduction du taux de cholestérol d'environ 20 % par rapport à des biopsies de peau saine [1]. Nous avons également observé que le contenu cellulaire en cholestérol des neurones sensoriels exposés à des médiateurs de l'inflammation était également réduit d'environ 16 %. Nous avons ensuite évalué l'effet de ces médiateurs inflammatoires sur le partitionnement préférentiel des canaux Nav1.9 dans les radeaux lipidiques. En analysant des extraits préparés à partir de neurones sensoriels exposés aux

médiateurs inflammatoires, nous avons observé une redistribution des canaux Nav1.9 à l'extérieur des radeaux dans la membrane « fluide ». Ces résultats indiquent donc que les canaux Nav1.9 diffusent des radeaux lipidiques vers la bicouche fluide environnante lors de d'une inflammation. Les expériences électrophysiologiques menées en parallèle montrent que cette diffusion s'accompagne d'une activation des canaux Nav1.9 et d'une augmentation importante de l'excitabilité des nocicepteurs, promotrice de douleurs. Ces données suggèrent ainsi un lien de causalité entre diminution du taux de cholestérol membranaire pendant l'inflammation et redistribution des canaux Nav1.9 à l'extérieur des radeaux lipidiques. Nous proposons que ce « ré-adressage » des canaux Nav1.9 concoure à leur activation. Cet environnement pauvre en cholestérol pourrait en effet être plus permissif aux changements de conformation des canaux Nav1.9, expliquant la facilitation de leur activation à des valeurs de potentiel de membrane plus négatives. *A contrario*, le cholestérol, en concentration suffisante, confine les canaux Nav1.9 dans les radeaux lipidiques, réduisant leur activité et par là même, la genèse des messages nociceptifs.

La déplétion en cholestérol membranaire par des agents exogènes génère de la douleur

Il est possible de contrôler la teneur en cholestérol dans les membranes en utilisant des composés qui chélatent ou oxydent le cholestérol. Les molécules de méthyl- β -cyclodextrine (M β CD) sont des « molécules-cage » qui permettent d'encapsuler le cholestérol et de l'extraire des membranes ; la cholestérol oxydase est, elle, une lipo-oxygénase qui transforme le cholestérol en cholesténone. Afin de tester si la déplétion locale de cholestérol, indépendamment d'une inflammation, promeut l'activation du canal Nav1.9, et donc la douleur, nous avons injecté dans la patte posté-

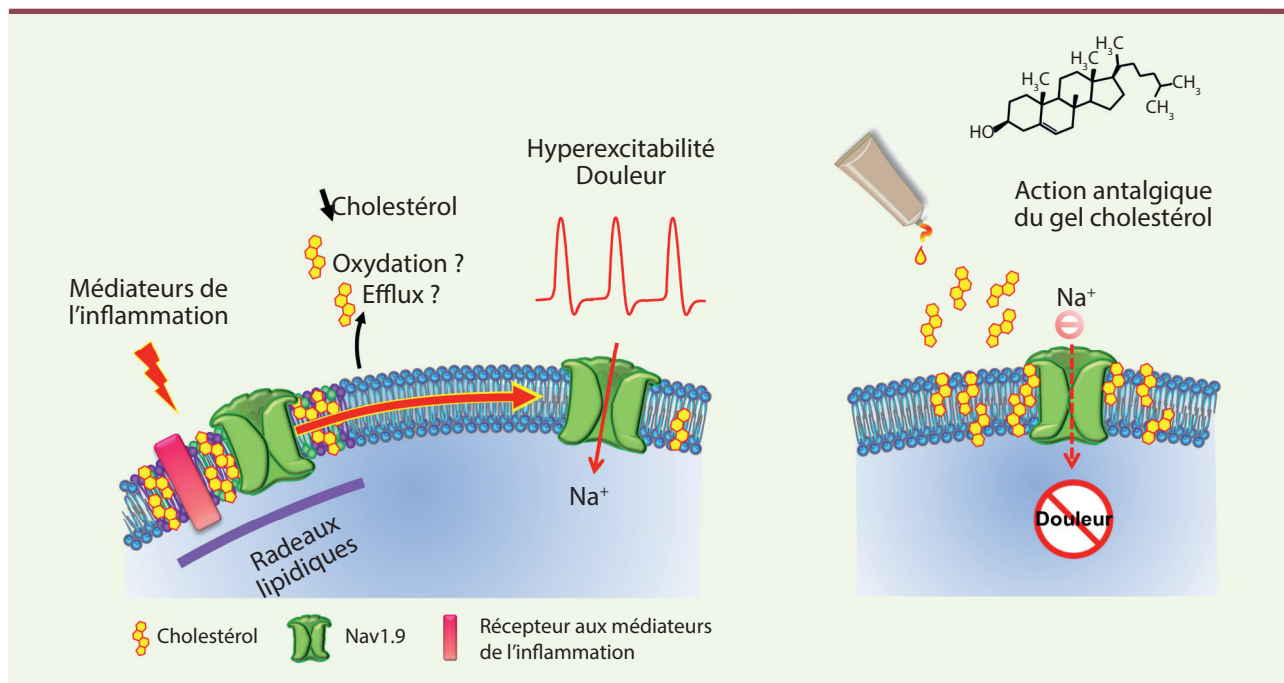


Figure 1. Régulation de la douleur inflammatoire par le cholestérol membranaire. Les radeaux lipidiques, constitués majoritairement de cholestérol et de sphingolipides, permettent le confinement de divers partenaires protéiques, dont le canal Nav1.9, à la surface membranaire. L'inflammation réduit localement la concentration en cholestérol et induit la diffusion des canaux Nav1.9 des radeaux lipidiques vers la membrane fluide. Cette redistribution s'accompagne d'une activation des canaux et d'une hyperexcitabilité des nocicepteurs. L'apport topique de cholestérol, sous forme de gel, restaure des niveaux normaux de cholestérol membranaire et inhibe l'activité des canaux Nav1.9 et le message douloureux. Ce gel est efficace chez l'animal dans le traitement symptomatique des douleurs inflammatoires aiguës et chroniques.

rière de souris de la M β CD ou de la cholestérol oxydase active. Ces deux manipulations ont produit les mêmes effets chez les animaux traités : une hypersensibilité à la douleur [1]. Le comportement douloureux qui est observé est spécifiquement dû à la déplétion en cholestérol membranaire. En effet, l'administration d' α -cyclodextrine, une molécule qui extrait la phosphatidylcholine et la sphingomyéline mais non le cholestérol, ou de M β CD préalablement saturée en cholestérol ne modifie en rien les seuils de sensibilité des animaux. De plus, l'hyperalgie mécanique et thermique des animaux, suite à la déplétion en cholestérol, est fortement réduite chez les souris n'exprimant pas le canal (les souris Nav1.9^{-/-}). Ces résultats comportementaux sont confirmés par les données obtenues *in vitro* par électrophysiologie, qui indiquent que l'application aiguë de M β CD ou de

cholestérol oxydase facilite l'ouverture des canaux Nav1.9 et augmente sensiblement l'excitabilité des nocicepteurs. Ces données indiquent donc que l'appauvrissement en cholestérol membranaire déclenche une hypersensibilité à la douleur *via* l'activation des canaux Nav1.9 (Figure 1).

La complémentation en cholestérol réduit la douleur inflammatoire

L'enrichissement en cholestérol des membranes cellulaires peut être réalisé par l'incubation des tissus avec des complexes cholestérol/M β CD (à un ratio molaire de 1/7). L'apport de cholestérol peut prévenir l'effet des médiateurs inflammatoires sur les nocicepteurs *in vitro*. En effet, l'incubation de M β CD saturée en cholestérol prévient l'activation des canaux Nav1.9 et l'hyperexcitabilité neuronale [1]. Nous avons développé un gel transdermique à base

de polymère d'hydroxyéthyl cellulose et de cholestérol soluble afin de tester son efficacité thérapeutique dans des modèles de douleurs inflammatoires. Ce gel topique est capable de restaurer les niveaux normaux de cholestérol dans la peau enflammée et ne présente pas de toxicité sur l'épiderme humain reconstitué. L'application du gel sur la patte enflammée de souris réduit fortement les sensations douloureuses dans les modèles de douleur inflammatoire persistante (suite à l'injection de carraghénine) et chronique (induite par l'adjuvant complet de Freund) chez l'animal [1] (Figure 1). Il agit comme un analgésique sur la composante neuronale et ne modifie pas la perception du toucher (pas d'effet anesthésiant) et la réaction inflammatoire.

En conclusion, cette étude apporte un éclairage nouveau sur l'homéostasie du cholestérol dans la douleur inflam-

matoire. Si l'excès de cholestérol est néfaste pour la santé, la réduction de la teneur en cholestérol des membranes peut être génératrice de sensibilisation des nocicepteurs et de douleurs. ♦

Cholesterol depletion triggers Nav1.9 channel-mediated inflammatory pain

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Amsalem M, Poilbout C, Ferracci G, et al. Membrane cholesterol depletion as a trigger of Nav1.9 channel-mediated inflammatory pain. *EMBO J* 2018 ; 37 : pii: e97349.
2. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry*. 5th ed. New York : W.H. Freeman, 2002. Section 26.3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22336/>
3. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry*. 5th ed. New York: W.H. Freeman, 2002. Section 26.4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22336/>
4. Simons K, Sampaio JL. Membrane organization and lipid rafts. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011 ; 3 : 1-17.
5. Lolignier S, Amsalem M, Maingret F, et al. Nav1.9 channel contributes to mechanical and heat pain hypersensitivity induced by subacute and chronic inflammation. *PLoS One* 2011 ; 6 : e23083.
6. Maingret F, Coste B, Padilla F, et al. Inflammatory mediators increase Nav1.9 current and excitability in nociceptors through a coincident detection mechanism. *J Gen Physiol* 2008 ; 131 : 211-25.
7. Amaya F, Wang H, Costigan M, et al. The voltage-gated sodium channel Na(v)1.9 is an effector of peripheral inflammatory pain hypersensitivity. *J Neurosci* 2006 ; 26 : 12852-60.
8. Lolignier S, Bonnet C, Gaudio C, et al. The Nav1.9 channel is a key determinant of cold pain sensation and cold allodynia. *Cell Rep* 2015 ; 11 : 1067-78.
9. Lolignier S, Eschalié A, Bonnet C, et al. Le canal Nav1.9 : protéine clé pour la perception du froid et cible thérapeutique potentielle contre la douleur. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 162-5.
10. Zhang XY, Wen J, Yang W, et al. Gain-of-function mutations in SCN11A cause familial episodic pain. *Am J Hum Genet* 2013 ; 93 : 957-66.
11. Han C, Yang Y, Te Morsche RH, et al. Familial gain-of-function Na(v)1.9 mutation in a painful channelopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017 ; 88 : 233-40.
12. Leng XR, Qi XH, Zhou YT, et al. Gain-of-function mutation p.Arg225Cys in SCN11A causes familial episodic pain and contributes to essential tremor. *J Hum Genet* 2017 ; 62 : 641-46.

NOUVELLE

La sous-unité catalytique de l'anaphase-promoting complex APC11 est impliquée dans la progression tumorale des cancers colorectaux présentant une instabilité chromosomique

Caroline Moyret-Lalle¹, Youenn Drouet², Alain Puisieux¹

Cancers colorectaux et instabilités génétiques

Les cancers colorectaux (CRC) sont parmi les cancers les plus fréquents dans le monde et sont au deuxième rang de la mortalité par cancer en France. Pour optimiser la prise en charge des patients atteints de CRC, plusieurs classifications moléculaires ont été établies depuis une dizaine d'années. Parmi les marqueurs moléculaires retenus, on retrouve notamment l'instabilité génétique. Il existe deux types d'instabilité génétique, l'instabilité génomique comprenant l'instabilité microsatellitaire (MSI) et l'hypermutableté, présente dans 15 % des CRC, et l'instabilité chromosomique (CIN) retrouvée dans 85 % des CRC. En 2015,

un consortium international a proposé une classification des CRC en 4 groupes distincts nommés CMS (*consensus molecular subtypes*) [1]. Dans le groupe CMS1 (représentant 14 % des CRC), l'instabilité MSI est prédominante, ainsi que le phénotype d'hyperméthylation des îlots CpG des promoteurs (CIMP⁺, *CpG Island methylator phenotype*) et d'infiltration immunitaire. Les groupes CMS2 (37 % des CRC) et CMS4 (23 % des CRC) sont enrichis en tumeurs présentant une forte instabilité CIN et le groupe CMS3 (13 % des CRC) présente des tumeurs à la fois MSI⁺ et MSI⁻, CIMP⁻, qui sont relativement stables au niveau chromosomique [1]. Récemment, une nouvelle étude a permis de confirmer le premier sous-type CMS1

¹Inserm U1052, CNRS UMR 5286, Cancer research center of Lyon, Lyon, F-69008, France ; Centre Léon Bérard, 28, rue Laënnec, Lyon, F-69008, France ; Université Lyon1, ISPB, Lyon, F-69008, France ; Université de Lyon, Lyon, F-69622, France ; LabEx DEVweCAN, Université de Lyon, F-69000 Lyon, France.

²Centre Léon Bérard, Département de santé publique, 28, rue Laënnec, Lyon, F-69008, France ; CNRS UMR 5558, Laboratoire de biométrie et biologie évolutive, Lyon, F-69373, France.

caroline.moyret-lalle@lyon.unicancer.fr

et de montrer une plus grande hétérogénéité des sous-types CMS2 et CMS4 présentant un génotype CIN ; en effet, certaines tumeurs présentent un génotype stable avec une hyperméthylation de l'ADN et des mutations dans les gènes *K-RAS* (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*), *SOX9* (*Sex-determining region-related HMG-box gene 9*) et *PCBP1* (*beta-subunit acetyl/propionyl-CoA carboxylase*) [2]. Au cours de la progression tumorale, dans une tumeur colorectale de type CIMP⁺, une mutation du gène *B-RAF* (*B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase*) sera préférentiellement associée à un infiltrat immunitaire, alors qu'une mutation du gène suppresseur de tumeur *APC* (*adenomatous polyposis*