

L'activité de l'AMPK garante de la barrière épithéliale de l'intestin

Séverine Olivier¹, Hanna Diounou¹, Marc Foretz¹,
Sandra Guilmeau¹, Noémie Daniel¹, André Marette²,
Malvyne Rolli-Derkinderen³, Benoit Viollet¹

¹Université de Paris, Institut Cochin, Inserm, CNRS, 24 rue du faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

²Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (IUCPQ) et Institut sur la nutrition et les aliments fonctionnels (INAF)

³Université de Nantes, Unité de recherche TENS (Le système nerveux entérique dans les maladies de l'intestin et du cerveau), Inserm, 44093 Nantes, France.
benoit.viollet@inserm.fr

> La barrière épithéliale de l'intestin, qui dépend de l'intégrité de la muqueuse intestinale, présente une double fonction : elle permet l'absorption des nutriments tout en protégeant l'organisme contre les agressions provenant de l'environnement extérieur, telles que celles des microorganismes pathogènes et des toxines bactériennes présents dans la lumière intestinale. Les cellules de l'épithélium intestinal, organisées en monocouche, sont étroitement liées entre elles par différents complexes jonctionnels, dont celui des jonctions serrées (*tight junctions*), qui ont un rôle majeur dans le contrôle de la perméabilité paracellulaire¹. Des dysfonctionnements de la fonction barrière de l'intestin, en particulier l'altération des jonctions serrées, sont caractérisés par une augmentation de la perméabilité intestinale, et ont été associés à la sévérité de nombreuses maladies intestinales, notamment les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (maladie de Crohn et rectocolite hémorragique) [1]. Une augmentation de la perméabilité intestinale a également été associée aux maladies neurodégénératives ou à certaines maladies métaboliques. Ainsi, les altérations de la barrière épithéliale intestinale contribuent, par exemple, au développement de l'obésité et de l'inflammation systémique de bas grade qui l'accompagne [2]. Le renforcement de la barrière épithéliale intestinale constitue donc

une approche thérapeutique intéressante pour limiter les conséquences pathologiques d'une hyperperméabilité intestinale. Cette stratégie nécessite cependant une meilleure compréhension des mécanismes qui contrôlent la perméabilité intestinale afin d'identifier des cibles thérapeutiques.

L'AMPK (*AMP-activated protein kinase*), principalement décrite pour son rôle de senseur cellulaire dans l'homéostasie énergétique, est une protéine kinase activée en réponse à un déficit énergétique. Elle déclenche alors une reprogrammation métabolique qui se caractérise par l'inhibition des processus anaboliques non essentiels consommateurs d'ATP et par l'induction des voies cataboliques produisant de l'ATP, permettant ainsi le rétablissement de l'équilibre énergétique dans la cellule [3, 4]. Son action ne se limite cependant pas au contrôle du métabolisme énergétique cellulaire. Elle est également impliquée dans l'assemblage des jonctions serrées et le contrôle de la perméabilité de l'épithélium rénal [5, 6]. Plus récemment, des résultats similaires, obtenus avec les cellules épithéliales intestinales de la lignée Caco-2 issue d'un adénocarcinome colique humain, ont montré que l'activation pharmacologique de l'AMPK améliore l'assemblage des jonctions serrées à la suite d'une lésion, tandis que son inhibition provoque une altération de la localisation de la protéine ZO-1 (*zonula occludens 1*) aux jonctions serrées, un défaut de résistance électrique trans-

épithéliale et de la fonction barrière de l'épithélium [7-9]. Dans une nouvelle étude, nous avons cherché à approfondir *in vivo* la compréhension du rôle de l'activité AMPK dans l'homéostasie de l'épithélium intestinal [10]. Pour cela, nous avons produit un modèle de souris génétiquement déficientes pour les deux sous-unités catalytiques de cette kinase (AMPK α 1 et AMPK α 2) spécifiquement dans les cellules épithéliales intestinales. Nous avons ainsi évalué, grâce à ces souris, les conséquences de l'absence locale d'activité AMPK sur la perméabilité de l'intestin, sur sa susceptibilité à l'inflammation, et sur la composition du microbiote intestinal (Figure 1).

L'intégrité de la barrière intestinale chez les souris dépourvues d'activité AMPK dans l'intestin a été étudiée en mesurant *ex vivo* la perméabilité transcellulaire et paracellulaire des différents segments de l'intestin grêle et du côlon placés dans une chambre de Ussing². Nous avons ainsi constaté une augmentation de la perméabilité exclusivement dans le côlon distal, suggérant une anomalie de la barrière épithéliale dans ce segment intestinal. Ce phénotype n'était cependant pas associé à une différence dans la réponse immunitaire, comme l'ont montré les taux

¹ Passage entre les cellules à travers les jonctions serrées.

² La chambre de Ussing désigne un dispositif expérimental permettant d'analyser la perméabilité aux molécules ou la résistance électrique d'un fragment d'épithélium placé entre deux demi-chambres (pour isoler ses faces muqueuse et séreuse) par la mesure de flux de molécules marquées ou de la différence de potentiel électrique entre deux électrodes.

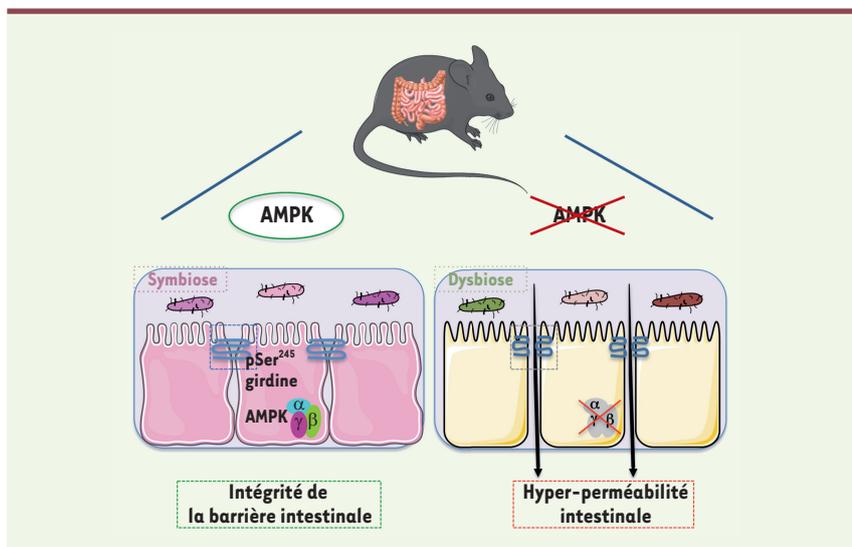


Figure 1. Conséquences fonctionnelles sur la perméabilité intestinale, la phosphorylation de la girdine et la composition du microbiote du côlon, de la suppression de l'activité de l'AMPK dans l'intestin chez la souris. pSer245 désigne le résidu sérine de la girdine (en position 245) phosphorylé par l'AMPK.

inchangés de cytokines pro-inflammatoires dans le côlon ou de lipocaline-2³ dans les fécès chez ces souris. De plus, bien que l'activation de l'AMPK ait été associée à une diminution de la perméabilité paracellulaire *in vitro*, conjointement à l'augmentation des quantités des protéines de jonctions serrées ZO-1, claudine et occludine [7, 8, 11-13], nous n'avons observé aucune modification de l'expression ou de la distribution de ces protéines chez les souris mutantes. En revanche, nous avons constaté une réduction de la phosphorylation de la protéine d'échafaudage girdine, un substrat de la kinase AMPK qui participe à l'intégrité de l'épithélium intestinal en stabilisant les jonctions serrées [9, 10] (Figure 1). Par ailleurs, l'analyse du microbiote fécal chez les animaux dépourvus d'activité AMPK dans l'intestin a révélé un changement significatif dans la composition de la communauté bactérienne intestinale, caractérisé notamment par un enri-

chissement en bactéries de l'ordre des *Clostridiales* et de la famille des *Desulfovibrionaceae* (Figure 1). Ces dernières sont également plus abondantes chez les patients atteints de rectocolite hémorragique. Elles ont été associées à une réduction de l'épaisseur des muqueuses, avec altération de la barrière intestinale, facilitant ainsi le contact entre les antigènes bactériens et le système immunitaire local [14]. D'autres genres bactériens intestinaux, comme *Dubosiella*, *Roseburia*, *Alloprevotella*, *Enterorhabdus* et *Anaerovorax*, sont, eux aussi, plus abondants chez les souris dépourvues d'activité AMPK intestinale. Cependant, nous n'avons pas observé de changement majeur dans la composition des populations bactériennes intestinales chez ces souris mutantes lorsqu'elles sont nourries avec un régime enrichi en graisses, par rapport à des souris témoins soumises au même régime alimentaire. Le rôle de l'activité AMPK sur la composition, mais aussi sur la fonction du microbiote intestinal, reste donc à préciser, par exemple par des expériences de transfert de microbiote.

Bien qu'il existe un lien entre l'augmentation de la perméabilité intestinale et le développement de l'obésité et du dia-

bète de type 2 [2], nous n'avons pas observé de modification de l'adiposité, de la tolérance au glucose, de la sécrétion de GLP-1 (*glucagon-like peptide 1*) ou de la sensibilité tissulaire à l'insuline chez les souris dépourvues d'activité AMPK intestinale par rapport à des souris témoins, même après un régime riche en graisses. Par ailleurs, nous avons montré que l'activité AMPK intestinale n'est pas nécessaire pour améliorer la tolérance au glucose des souris après administration de metformine (un médicament anti-diabétique) par voie orale [15, 16] (→). Nous avons donc montré que l'activité AMPK joue un rôle important dans la fonction barrière de l'épithélium intestinal, en particulier (→) Voir la Synthèse de M. Foretz et B. Viollet, *m/s* n° 1, janvier 2014, page 82

Elle participe au contrôle de la perméabilité de cet épithélium en modulant la phosphorylation de la girdine, garante de l'intégrité des jonctions serrées entre les cellules épithéliales. Il existe par ailleurs une interaction complexe entre la composition du microbiote intestinal et l'activité AMPK des cellules intestinales. En effet, l'absence de cette activité est associée à une dysbiose⁴, qui pourrait, à long terme ou en cas d'inflammation locale, mener à des perturbations métaboliques. Il a en effet été suggéré que l'inhibition de l'activité AMPK des cellules intestinales pourrait empêcher les modifications bénéfiques de la diversité et de la composition microbienne induites par un régime riche en fibres [17]. Il reste donc à examiner si l'activation de la voie de signalisation AMPK par des approches pharmacologiques ou nutritionnelles (régime riche en fibres) pourrait permettre de renforcer la barrière épithéliale de l'intestin, en particulier dans le contexte de maladies associées à une augmentation de la perméabilité intestinale. ♦

AMPK activity is a gatekeeper of the intestinal epithelial barrier

³ La lipocaline-2 (Lcn2), aussi appelée *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), est une protéine produite par les granulocytes neutrophiles qui est circulante et présente dans les fécès, et qui participe à l'inflammation.

⁴ La dysbiose se définit par une altération qualitative et/ou fonctionnelle du microbiote intestinal.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Mankertz J, Schulzke JD. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications. *Curr Opin Gastroenterol* 2007 ; 23 : 379-83.
2. Genser L, Aguanno D, Soula HA, et al. Increased jejunal permeability in human obesity is revealed by a lipid challenge and is linked to inflammation and type 2 diabetes. *J Pathol* 2018 ; 246 : 217-30.
3. Foretz M, Taleux N, Guigas B, et al. Régulation du métabolisme ébergétique par l'AMPK : une nouvelle voie thérapeutique pour le traitement des maladies métaboliques et cardiaques. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 381-8.
4. Hardie DG. AMP-activated protein kinase: maintaining energy homeostasis at the cellular and whole-body levels. *Annu Rev Nutr* 2014 ; 34 : 31-55.
5. Zhang L, Li J, Young LH, Caplan MJ. AMP-activated protein kinase regulates the assembly of epithelial tight junctions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 17272-7.
6. Zheng B, Cantley LC. Regulation of epithelial tight junction assembly and disassembly by AMP-activated protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 819-22.
7. Olivier S, Leclerc J, Grenier A, et al. AMPK activation promotes tight junction assembly in intestinal epithelial Caco-2 cells. *Int J Mol Sci* 2019 ; 20 : 5171.
8. Sun X, Yang Q, Rogers CJ, et al. AMPK improves gut epithelial differentiation and barrier function via regulating Cdx2 expression. *Cell Death Differ* 2017 ; 24 : 819-31.
9. Ghosh P, Swanson L, Sayed IM, et al. The stress polarity signaling (SPS) pathway serves as a marker and a target in the leaky gut barrier: implications in aging and cancer. *Life Sci Alliance* 2020 ; 3 : e201900481.
10. Olivier S, Pochard C, Diounou H, et al. Deletion of intestinal epithelial AMP-activated protein kinase alters distal colon permeability but not glucose homeostasis. *Mol Metab* 2021 ; 47 : 101183.
11. Scharl M, Paul G, Barrett KE, McCole DF. AMP-activated protein kinase mediates the interferon-gamma-induced decrease in intestinal epithelial barrier function. *J Biol Chem* 2009 ; 284 : 27952-63.
12. Zhao Z, Hu J, Gao X, et al. Activation of AMPK attenuates lipopolysaccharide-impaired integrity and function of blood-brain barrier in human brain microvascular endothelial cells. *Exp Mol Pathol* 2014 ; 97 : 386-92.
13. Park HY, Kunitake Y, Hirasaki N, et al. Theaflavins enhance intestinal barrier of Caco-2 cell monolayers through the expression of AMP-activated protein kinase-mediated occludin, claudin-1, and ZO-1. *Biosci Biotechnol Biochem* 2015 ; 79 : 130-7.
14. Rowan F, Docherty NG, Murphy M, et al. *Desulfovibrio* bacterial species are increased in ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum* 2010 ; 53 : 1530-6.
15. Foretz M, Viollet B. Les nouvelles promesses de la metformine : vers une meilleure compréhension de ses mécanismes d'action. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 82-92.
16. Foretz M, Guigas B, Viollet B. Understanding the glucoregulatory mechanisms of metformin in type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2019 ; 15 : 569-89.
17. Li Q, Zhang M, Wu T, Liu R. Potential correlation between carbohydrate-active enzyme family 48 expressed by gut microbiota and the expression of intestinal epithelial AMP-activated protein kinase β . *J Food Biochem* 2020 ; 44 : e13123.