

► L'horloge circadienne programme l'ensemble des processus physiologiques, dont l'activité du système immunitaire, à des moments précis de la journée. Elle permet d'optimiser les fonctions de l'organisme en anticipant les changements quotidiens tels que les cycles jour/nuit. Nos habitudes de vie comme l'exposition à la lumière artificielle ou une prise alimentaire irrégulière désynchronisent cependant cette horloge et provoquent des maladies, par exemple inflammatoires. Au niveau moléculaire, elle consiste en un réseau de facteurs de transcription dont certains sont des récepteurs nucléaires, activables par des ligands. Une meilleure compréhension des rythmes biologiques et du rôle des récepteurs nucléaires de l'horloge circadienne permettrait d'ouvrir un champ thérapeutique nouveau. La chronothérapie qui consiste en l'administration d'un composé pharmacologique au moment de la journée le plus propice, permettrait, en ciblant ces récepteurs, d'optimiser l'efficacité du traitement et d'en réduire les possibles effets secondaires. ◀

L'horloge circadienne

L'horloge circadienne est un mécanisme endogène de mesure du temps qui permet à l'organisme d'anticiper l'alternance jour/nuit due à la rotation de la Terre. Le mécanisme moléculaire de l'horloge est fondé sur un réseau de facteurs de transcription dont l'abondance et/ou l'activité oscillent avec une périodicité d'environ un jour (*circa diem*). L'horloge contrôle des processus tels que la transcription, la traduction et les voies de sécrétion. En conséquence, certaines fonctions auront lieu le jour, d'autres la nuit ou lors des transitions jour/nuit. Cela permet de programmer une fonction au moment où elle sera optimale et de séparer dans le temps des processus incompatibles. Quelques exemples

Vignette (© Hélène Duez).

Récepteurs nucléaires et rythmes circadiens

Implications dans les maladies inflammatoires

Hélène Duez, Benoit Pourcet



Univ. Lille, Inserm, CHU Lille,
Institut Pasteur de Lille,
U1011- EGID, F-59000 Lille,
France.
helene.duez@pasteur-lille.fr
helene.duez@inserm.fr

de cette orchestration rythmique des fonctions biologiques sont les cycles veille-sommeil, les variations quotidiennes de sécrétions endocrines (cortisol, mélatonine), les réactions métaboliques, les fonctions immunitaires, la température corporelle et la pression artérielle [1, 2] (→).

(→) Voir la Synthèse de H. Duez, m/s n° 8-9, août-septembre 2013, page 772

Organisation

L'horloge est présente dans toutes les cellules et fonctionne de manière autonome pour générer des rythmes d'environ 24 heures qui sont dits endogènes, c'est-à-dire observés même lorsque l'organisme est placé dans un environnement stable (sans variation de facteurs environnementaux tels que la lumière ou la température). Chez les mammifères, l'horloge dite centrale se situe dans les noyaux supra-chiasmatisques (NSC) de l'hypothalamus (Figure 1). L'horloge des NSC est « entraînée », c'est-à-dire remise à l'heure et ajustée à la rotation terrestre, par les cycles jour/nuit en particulier [1]. L'horloge centrale gouverne les cycles veille/sommeil et coordonne des horloges dites périphériques, situées dans tous les organes/tissus en dehors des NSC, grâce à des signaux hormonaux et neuronaux. Cela permet une harmonie des rythmes entre organes, et entre cellules d'un même organe. En plus de la lumière, d'autres ordonnateurs de temps ont été mis en évidence. Parmi eux, la prise de nourriture peut « entraîner » les horloges de la plupart des tissus de manière indépendante de l'horloge centrale, si bien qu'une exposition à la lumière ou la prise de nourriture « au mauvais moment » de la journée (comme c'est le cas lors de décalages horaires répétés ou chez les travailleurs postés) peut

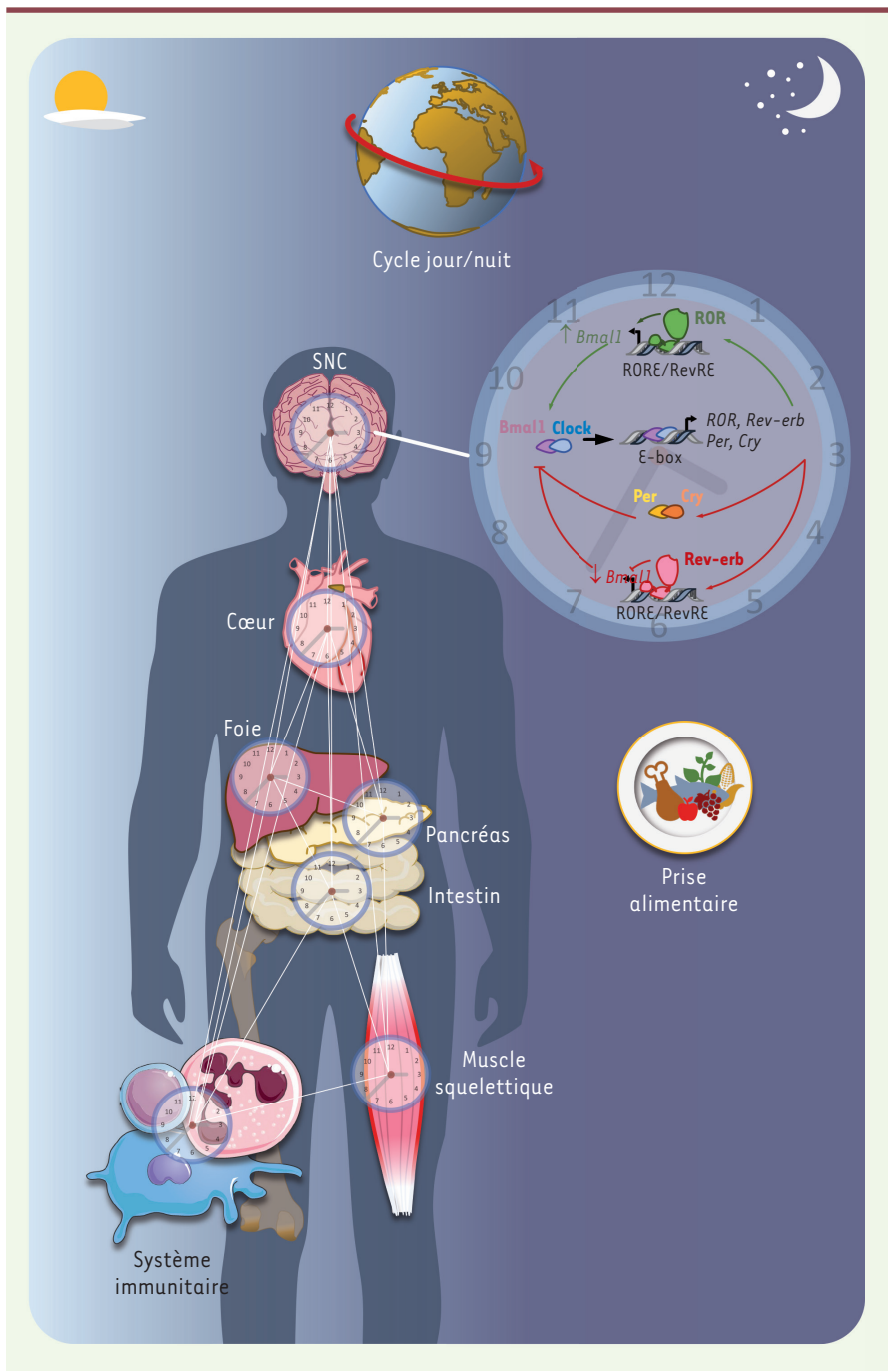


Figure 1. Réseaux circadiens et chronobiologie. L'horloge centrale est située dans le système nerveux central (SNC), plus particulièrement au niveau du noyau suprachiasmatique, où elle programme les cycles de veille/sommeil et de prise alimentaire en fonction de la rotation de la Terre sur son axe. Les horloges sont également présentes dans la plupart des tissus périphériques, formant ainsi un réseau d'horloges qui anticipent les changements environnementaux au cours de la journée. BMAL1 : brain and muscle Arnt-like protein 1 ; CLOCK : circadian locomotor output cycles kaput ; CRY : cryptochrome ; PER : period ; ROR : retinoid acid-related orphan receptor ; RORE : ROR response element.

nel. Une première boucle constituée de l'hétérodimère formé par BMAL1 (brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1) et CLOCK (circadian locomotor output cycles kaput protein) active la transcription des gènes *PER* (period) et *CRY* (cryptochrome) via la liaison à des E-box (CACGTG), des séquences particulières situées dans leurs régions promotrices. Cela conduit à l'accumulation progressive des protéines PER et CRY dans le cytoplasme. Une fois en concentration suffisante, PER et CRY s'hétérodimérisent, transloquent dans le noyau et se lient au complexe CLOCK/BMAL1 pour inhiber son activité, réprimant ainsi leur propre transcription. Les protéines PER et CRY sont progressivement phosphorylées et ubiquitinées par des ligases E3 spécifiques, ce qui

conduit à leur dégradation par le protéasome, et permet d'entamer un nouveau cycle [3]. Une deuxième boucle est constituée des récepteurs nucléaires ROR (retinoic acid receptor-related orphan receptor) et REV-ERB α/β (ou NR1D1 pour nuclear receptor subfamily 1 group D member 1/NR1D2) qui, respectivement, activent et répriment l'expression de BMAL1 en se fixant sur des éléments de réponse nommés RORE/REVRE. Étant donné que les quantités de REV-ERB α et REV-ERB β présentent une forte rythmicité circadienne,

conduit à leur dégradation par le protéasome, et permet d'entamer un nouveau cycle [3]. Une deuxième boucle est constituée des récepteurs nucléaires ROR (retinoic acid receptor-related orphan receptor) et REV-ERB α/β (ou NR1D1 pour nuclear receptor subfamily 1 group D member 1/NR1D2) qui, respectivement, activent et répriment l'expression de BMAL1 en se fixant sur des éléments de réponse nommés RORE/REVRE. Étant donné que les quantités de REV-ERB α et REV-ERB β présentent une forte rythmicité circadienne,

Composants moléculaires de l'horloge circadienne

Tous les types cellulaires expriment les composants de l'horloge moléculaire (Figure 2). Ces derniers sont des facteurs de transcription organisés en boucles de rétrocontrôle transcriptionnel et traduction-

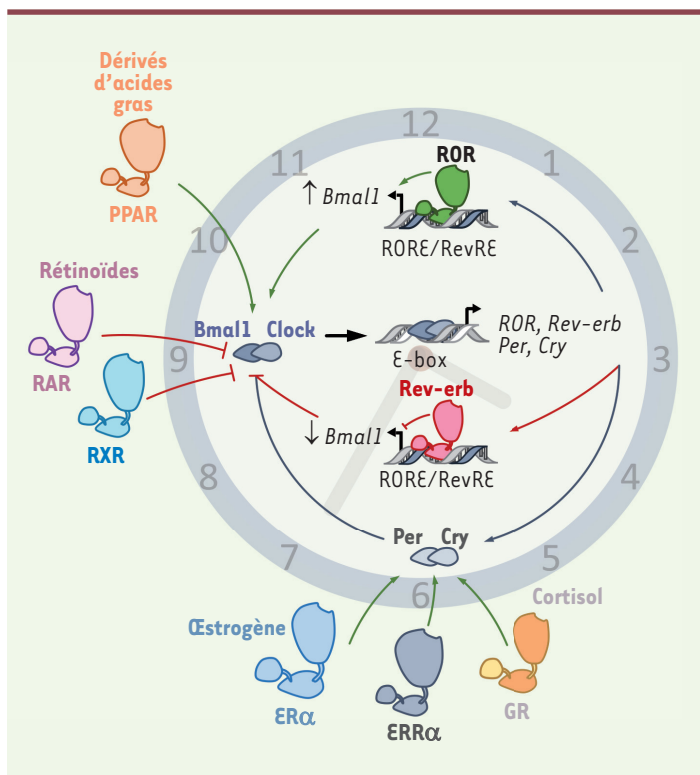


Figure 2. La machinerie moléculaire circadienne est régulée par les récepteurs nucléaires. L'horloge moléculaire est composée de boucles transcriptionnelles de rétrocontrôle positif et négatif. Le complexe de transcription Bmal1/Clock induit l'expression de gènes contenant un élément de réponse nommé ϵ -box, comme le complexe régulateur négatif composé des protéines Period (Per) et Cryptochrome (Cry). À son tour, l'hétérodimère Per/Cry inhibe l'activité transcriptionnelle du complexe Bmal1/Clock. Une fois que les niveaux Per et Cry sont suffisamment bas, un nouveau cycle peut commencer. L'hétérodimère Clock/Bmal1 induit également l'expression des récepteurs nucléaires Rev-erb α/β et ROR $\alpha/\beta/\gamma$ (retinoid acid-related orphan receptor α, β, γ). Rev-erb et ROR rentrent alors en compétition pour la liaison des molécules RevRE/RORE au niveau du promoteur de leurs gènes cibles communs pour respectivement réprimer ou activer leur transcription. L'effet global de ces boucles est l'expression rythmique de ces facteurs. D'autres récepteurs nucléaires, qui n'appartiennent pas à l'horloge centrale, sont capables d'activer (flèche verte) ou d'inhiber (flèche rouge) l'expression et/ou l'activité de l'horloge centrale. Cela inclut le récepteur des glucocorticoïdes (GR) activé par le cortisol, les PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors) α et γ , dont les ligands naturels sont les acides gras et leurs dérivés, le récepteur des œstrogènes (ER) α , le récepteur X de l'acide 9-cis-rétinoïque (RXR), le récepteur activé par l'acide all-trans-rétinoïque et l'acide 9-cis-rétinoïdes (RAR) et l'ERR (estrogen-related receptor) alpha.

leur liaison au promoteur de *Bmal1* est rythmique et contribue aux oscillations de BMAL1. REV-ERB réprime également la transcription de *Cry1*, induisant un délai dans l'expression de CRY1. Ainsi, REV-ERB contrôle les deux boucles de l'horloge. Ces différentes protéines subissent des modifications post-traductionnelles, notamment des phosphorylations, des ubiquitinations, des glycosylations, etc., qui

permettent, notamment en modifiant leur demi-vie, leur localisation ou leur activité, de maintenir la période des rythmes [3].

Ces facteurs de transcription ne contrôlent pas uniquement leur propre transcription mais se lient également à de nombreux gènes codant des enzymes, des transporteurs, des cytokines, etc., générant ainsi des vagues rythmiques dans les programmes géniques impliqués dans les fonctions tissulaires. Chez la souris, au moins 43 % des gènes codant des protéines présentent des oscillations circadiennes dans au moins un organe [4]. Cela génère une rythmicité pour un grand nombre de processus biologiques, tels que la traduction et la sécrétion de molécules (hormones, cytokines et métabolites).

Récepteurs nucléaires et horloge

Les récepteurs nucléaires possèdent un domaine de liaison à l'ADN (DBD pour DNA-binding domain) ainsi qu'un domaine de liaison au ligand (LBD pour ligand-binding domain). Après fixation de leur ligand (hormones stéroïdiennes, lipides, acides biliaires, médiateurs inflammatoires, etc.) sur le LBD, ces récepteurs se lient en tant que monomères, ou sous la forme d'homomères ou d'hétéro-dimères, à un élément de réponse spécifique localisé dans les séquences régulatrices de leurs gènes cibles (Figure 2). REV-ERB et ROR sont des récepteurs nucléaires capables de se fixer sur les mêmes éléments de réponse mais, tandis que les récepteurs REV-ERB répriment la transcription, les ROR l'activent. Ils entrent ainsi en compétition pour la régulation de *Bmal1* [5]. Le récepteur des glucocorticoïdes (GR, pour glucocorticoid receptor) est activé par les glucocorticoïdes dont la production endogène est rythmique, maximale en début de phase active (pic de cortisol le matin chez l'homme). Outre ses propriétés anti-inflammatoires et métaboliques, le GR est impliqué dans la régulation de la machinerie de l'horloge. Des éléments de réponse aux glucocorticoïdes ont été identifiés dans le promoteur de *Rev-erb α* , *Per1* et *Per2* [6, 7] (Figure 2). En retour, REV-ERB α interagit avec GR et diminue sa stabilité et modifie sa localisation subcellulaire sans modifier sa transcription [8]. CRY interagit également avec GR et régule son activité, comme le démontre la réponse accrue à la dexaméthasone chez les souris déficientes pour *Cry1* et *Cry2* [9]. Enfin, CLOCK est capable de contrôler l'acétylation de GR et de moduler ainsi le recrutement du récepteur nucléaire sur l'ADN [10]. Par ailleurs, l'expression de *Rev-erb α* est augmentée par la liaison de PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor) et PPAR γ à son promoteur. PPAR α augmente également l'expression de *Bmal1* dans le foie des rongeurs, ce qui

lui permet de moduler finement les deux boucles de l'horloge [5]. De la même manière, les récepteurs nucléaires RAR α et RXR α , activés, entre autres, par les acides rétinoïques *all-trans*¹, peuvent réinitialiser l'horloge de l'appareil vasculaire en inhibant l'activité du complexe CLOCK-BMAL1 (Figure 2) [11].

Dans les glandes mammaires et l'utérus, le récepteur des œstrogènes, ER α , induit directement l'expression du gène *Per2* (Figure 2) [12]. Le récepteur orphelin ERR α (*estrogen-related receptor alpha*) régule, quant à lui, les effets de l'horloge sur le métabolisme en interagissant indirectement avec *Bmal1* via le facteur de transcription PROX1 [13] (Figure 2). Inversement, l'expression d'ERR α est aussi contrôlée par l'horloge, montrant ainsi l'existence d'interactions étroites entre ERR α et la machinerie circadienne [14].

Ces récepteurs nucléaires répondent à de nombreux ligands, des hormones stéroïdiennes comme les glucocorticoïdes, ou des métabolites (des acides biliaires, des lipides [acides gras, cholestérol] et des dérivés lipidiques dont certains présentent des activités anti-inflammatoires, comme les leucotriènes). Ils permettent ainsi à l'horloge d'intégrer des signaux locaux sur l'état énergétique et/ou inflammatoire [5].

Immunité circadienne et récepteurs nucléaires

Horloge et trafic des cellules immunitaires

Le système immunitaire est davantage sollicité lors des périodes d'activité au cours desquelles il doit faire face à un risque infectieux accru et participer au contrôle de l'homéostasie tissulaire. L'horloge contrôle donc la réponse inflammatoire/immunitaire, un concept connu sous le terme d'« immunité circadienne » [15]. L'horloge est présente dans les cellules immunitaires (macrophages, lymphocytes, polynucléaires neutrophiles, etc.) ainsi que dans les tissus lymphoïdes (rate, ganglions lymphatiques et moelle osseuse) [16]. Le nombre de leucocytes qui circulent oscille de façon nyctémérale², en raison des variations circadiennes de la sortie des cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse [17]. Les leucocytes tissulaires présentent, quant à eux, des variations circadiennes qui sont principalement dues aux oscillations de leur adhérence à l'endothélium des vaisseaux sanguins et à leur translocation dans les tissus [16, 17] (Figure 3). Par exemple, dans les poumons, le recrutement des polynucléaires neutrophiles suite à un stimulus inflammatoire dépend de la libération rythmique de la chimiokine CXCL5 (*C-X-C motif chemokine ligand 5*) par les cellules épithéliales pulmonaires [18].

L'horloge module la fonction des leucocytes

Les fonctions des cellules immunitaires, telles que l'expression et l'activation de récepteurs de composants exogènes (les PAMP, pour *pathogen-associated molecular patterns*) ou endogènes considérés comme des molécules de danger (les DAMP, pour *damage-associated molecular patterns*), la production de cytokines, de chimiokines et de

métalloprotéases, la phagocytose ou la réponse aux agents pathogènes, présentent également des oscillations circadiennes (pour revue, voir [19]) (Figure 3). Cela entraîne des variations circadiennes de la susceptibilité aux infections et au choc septique, et également de la sévérité des symptômes associés [19]. Chez des souris soumises à un choc endotoxique par injection de LPS (lipopolysaccharide), la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages, en particulier d'IL(interleukine)-6, varie de manière significative en fonction de l'heure de l'injection, ces variations journalières étant perdues lorsque l'horloge est altérée [20, 21].

Contrôle circadien de l'inflammasome NLRP3

Le système immunitaire inné détecte les PAMP ainsi que les DAMP, qui favorisent l'inflammation stérile³ nécessaire à la résolution des blessures, à la réparation/régénération des tissus et à leur homéostasie. L'inflammasome NLRP3 (*NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3*) est un complexe protéique de signalisation de l'immunité innée dont l'assemblage et l'activation peuvent être déclenchés par divers signaux, allant de molécules microbiennes à l'ATP ou à l'accumulation anormale de cristaux, à l'origine de la maturation et de la sécrétion de l'IL-1 β et de l'IL-18 [22] (→).

(→) Voir la Synthèse de M. Gros Lambert et B.F. Py, *m/s* n° 1, janvier 2018, page 47

La dérégulation de l'inflammasome est associée à de nombreuses maladies inflammatoires et métaboliques, notamment la polyarthrite rhumatoïde, la goutte, l'athérosclérose ou le diabète de type 2. L'expression des composants de l'inflammasome NLRP3 oscille de manière circadienne sous le contrôle de REV-ERB α dans les macrophages et ces oscillations sont perdues en cas de délétion du gène codant REV-ERB α [23] (Figure 4). REV-ERB α se lie à des éléments de réponse spécifiques situés dans les promoteurs des gènes *Nlrp3* et *Il1 β* réprimant ainsi leur expression [23]. REV-ERB α régule également l'expression de *Nlrp3*, via le contrôle de la voie de signalisation impliquant NF- κ B (*nuclear factor-kappa B*) [24], et son activation, en agissant sur le clivage de la caspase-1, responsable de la maturation et de la sécrétion de l'IL-1 β et de l'IL-18 [23]. Dans un modèle de péritonite stérile aiguë induite par la co-administration intrapéritonéale de LPS et d'alum, pour activer spécifiquement la voie de l'inflammasome NLRP3, les concentrations plasmatiques d'IL-1 β et d'IL-18 sont plus élevées chez les souris déficientes en REV-ERB α , à la fin de la phase de

¹ Acides rétinoïques se fixant aux récepteurs RAR et RXR.

² Nyctémère : espace de temps comprenant un jour et une nuit et correspondant à un cycle biologique.

³ Inflammation induite par la libération des signaux de danger.

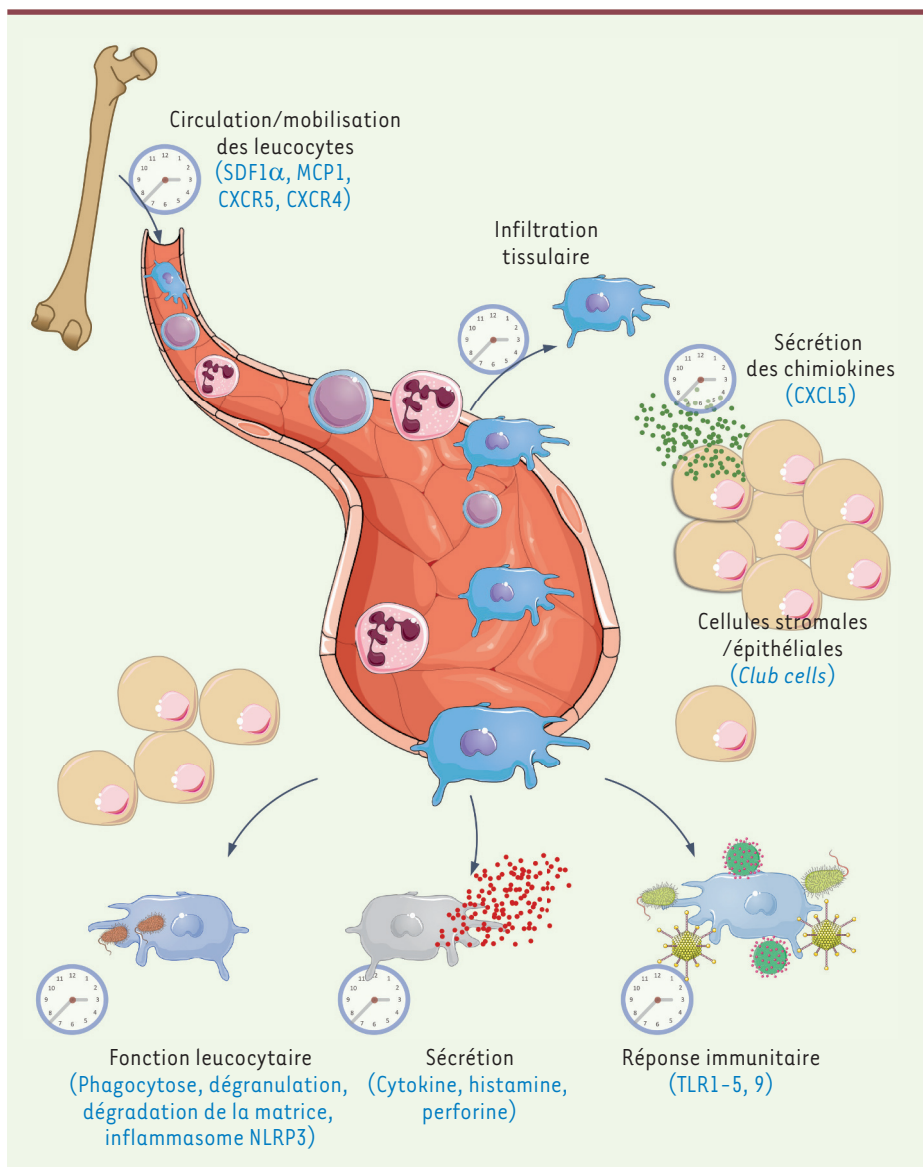


Figure 3. L'immunité circadienne.

L'horloge moléculaire contrôle un nombre important de fonctions immunitaires comme la sécrétion des cytokines, la phagocytose, la réponse à des pathogènes (bactéries, parasites) au travers du contrôle de l'expression des *Toll-like receptors* (TLR), ainsi que la réponse aux molécules de danger, au travers du contrôle de l'inflammasome NLRP3. La mobilisation au niveau de la moelle osseuse, le nombre de leucocytes plasmatiques circulants, ainsi que leur recrutement dans les tissus, varient également de manière circadienne.

que l'on observe aux premières heures du matin [25]) et elle diminue pendant le sommeil. Ainsi, plusieurs études ont mis en évidence une relation entre le travail posté (perturbation chronique) ou entre un décalage circadien aigu et la survenue d'une athérosclérose et d'une inflammation générale élevée, même après ajustement sur l'âge et les facteurs de risque courants [26, 27]. Des perturbations de l'horloge augmentent également les facteurs de risque cardiovasculaire, tels que l'inflammation, la dyslipidémie,

repos, quand l'expression de REV-ERB α est la plus importante chez les souris contrôles, alors que cette différence est perdue pendant la phase active, lorsque REV-ERB α est naturellement absent [23].

Dérèglements de l'horloge, récepteurs nucléaires et maladies inflammatoires

Horloge et maladies cardiovasculaires

Horloge et athérosclérose

Des horloges circadiennes sont présentes dans les différents types cellulaires formant la paroi des vaisseaux sanguins. Elles participent à la fonction et au tonus vasculaires. En effet, la pression artérielle présente des oscillations circadiennes : elle commence à augmenter avant la transition sommeil-veille (ce qui coïncide avec l'augmentation de la fréquence d'événements cardiovasculaires thrombotiques aigus

le diabète ou l'hypertension [28].

Chez la souris, l'altération génétique de l'horloge moléculaire contribue aussi bien aux altérations métaboliques qu'à une réponse inflammatoire anormale, généralement exacerbée, à l'origine, dans la plupart des cas, du développement de lésions d'athérosclérose. La mutation perte de fonction *clock Δ 19* ou l'inactivation de *Bmal1* ou de *Rev-erb α* entraînent une hyperlipidémie, qui, associée à un profil pro-inflammatoire des macrophages, favorise l'athérogenèse [5]. En effet, l'inactivation de *Rev-erb α* dans les cellules de la lignée myéloïde modifie la polarisation des macrophages vers un profil pro-inflammatoire et augmente la taille des lésions d'athérosclérose [29]. Dans les macrophages présents dans la lésion, les LDL (*low density lipoprotein*) oxydées et les cristaux de cholestérol sont

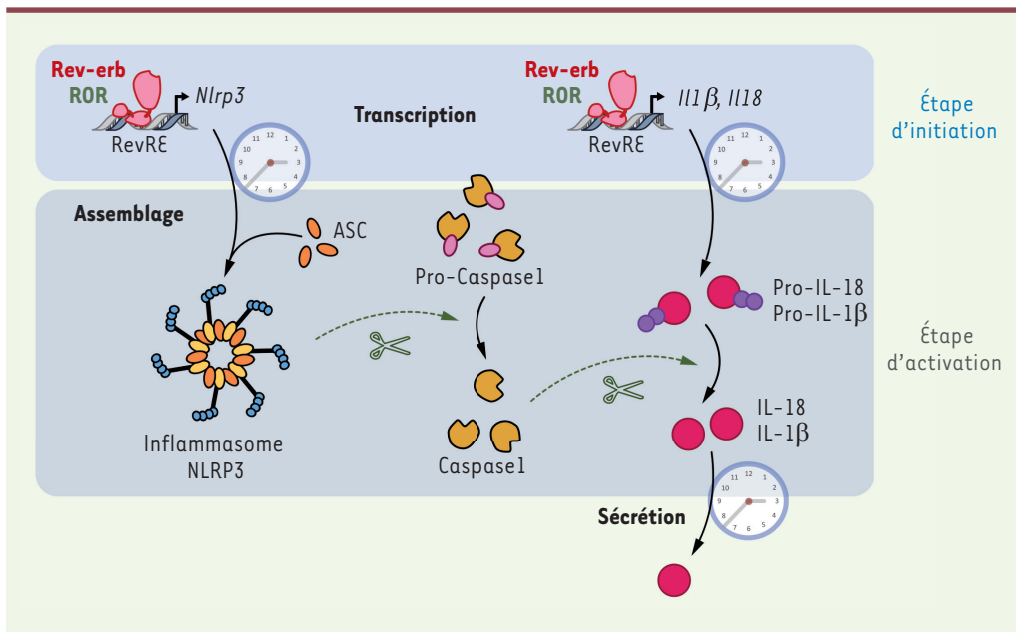


Figure 4. Contrôle circadien de l'inflammasome NLRP3. L'inflammasome NLRP3 détecte un large panel de molécules de dangers (DAMP : *damage-associated molecular patterns*) et de pathogènes (PAMP : *pathogen-associated molecular patterns*), comme les cristaux de cholestérol qui s'accumulent dans les plaques d'athérosclérose, les cristaux d'urée monosodique qui s'accumulent dans les articulations des patients souffrant de goutte, ou les cristaux d'hydroxyapatite à l'ori-

gine de la polyarthrite rhumatoïde. L'activation de l'inflammasome se fait en deux étapes, une étape d'initiation qui contrôle l'expression de l'inflammasome NLRP3 et des interleukines IL-1 β et IL-18 au niveau transcriptionnel et une étape d'activation qui déclenche la formation du complexe inflammasome composé des protéines NLRP3 et ASC (*apoptosis-associated speck-like containing a caspase recruitment domain protein*). La première étape (de « *priming* ») est contrôlée par les composants de l'horloge Rev-erbs et ROR par un mécanisme de liaison directe à l'ADN.

susceptibles d'activer l'inflammasome NLRP3 qui, en retour, contribue à la réponse inflammatoire vasculaire par une production accrue d'IL-18 et d'IL-1 β . L'inhibition de l'inflammasome NLRP3 réduit cette athérogenèse [30].

L'hypothèse d'une perturbation du contrôle circadien de l'activation de l'inflammasome NLRP3 au sein des cellules spumeuses (des macrophages gorgés de lipides) est ainsi plausible et pourrait concourir à l'augmentation des lésions chez les souris déficientes pour *Rev-erb α* dans les cellules de la lignée myéloïde. BMAL1 contrôle la polarisation des macrophages ainsi que les oscillations circadiennes des monocytes circulants pro-inflammatoires (Ly6C^{high}), mais les conséquences en termes d'athérosclérose ne sont pas clairement identifiées puisque la délétion de *Bmal1*, spécifiquement dans le compartiment myéloïde, augmente le recrutement des monocytes et aggrave l'athérosclérose dans une étude [31], tandis qu'elle la diminue dans une autre [32]. Un sommeil fragmenté, de manière chronique, entraîne une production accrue de monocytes Ly6C^{high} qui s'infiltrent en plus grande quantité dans les lésions d'athérosclérose, accélérant le développement de cette dernière [33]. De même, une perturbation environnementale des rythmes circadiens, induite par un décalage horaire chronique, favorise le développement de l'athérosclérose et augmente le contenu en macrophages des lésions [34]. Le recrutement des monocytes pro-inflammatoires, par la production de chimiokines comme CCL2 (*C-C motif chemokine ligand 2*, aussi appelé MCP-1, pour *monocyte chemoattractant protein 1*) et l'activation de son récepteur, CCR2 (*C-C motif chemokine receptor 2*), jouent un rôle important dans le développement des plaques d'athérosclérose.

Les cellules myéloïdes sont recrutées dans les lésions de manière circadienne, avec un pic au cours de la transition entre activité et repos, grâce au dépôt rythmique de CCL2 sur l'endothélium artériel par les cellules circulantes [35]. Une approche chrono-pharmacologique ciblant le recrutement des monocytes, via l'inhibition de l'axe CCR2/CCL2 spécifiquement au moment du pic d'infiltration, diminue significativement le développement des lésions d'athérosclérose.

Horloge et infarctus du myocarde

Des perturbations de l'horloge circadienne entraînent des cardiomyopathies, une dysfonction cardiaque, une arythmie et une survie réduite. Par exemple, les variations circadiennes de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque sont réduites ou perdues chez les souris portant la mutation *Clock $\Delta 19$* spécifiquement dans les cardiomyocytes. L'infarctus du myocarde s'accompagne d'une réponse inflammatoire stérile qui permet l'élimination des débris de cardiomyocytes nécrotiques, l'angiogenèse et la cicatrisation. Toutefois, cette réponse inflammatoire favorise également la mort cellulaire, l'expansion de la zone infarctée et entraîne une fibrose et un remodelage ventriculaire qui sont délétères. Une perturbation environnementale de l'horloge a un impact négatif sur le remodelage et la fonction cardiaques. Elle augmente l'infiltration de macrophages et conduit à une hypertrophie cardiaque

chez les souris subissant un infarctus [36]. L'influence de l'horloge sur les lésions d'ischémie/reperfusion (I/R) a par ailleurs été évaluée : chez des souris subissant une I/R lors des transitions de la phase de repos vers la phase active, la taille de l'infarctus est plus importante et une fibrose et un remodelage cardiaque défavorable sont observés en comparaison avec des souris ayant subi une I/R lors de la transition de la phase active vers la phase de repos. Il existe donc un rythme circadien dans la tolérance à l'I/R qui est nettement atténué chez les souris porteuses de la mutation *ClockΔ19* ciblée spécifiquement dans les cardiomyocytes [37]. Une observation similaire a été faite chez des patients opérés pour remplacer la valve aortique et nécessitant la mise en place d'une circulation extracorporelle. Les complications cardiaques sont en effet moins fréquentes et moins sévères lorsque cette chirurgie est réalisée l'après-midi plutôt que le matin [38]. Chez la souris, dans un modèle de cœur isolé perfusé, le ciblage de l'horloge circadienne, par la modulation pharmacologique de Rev-erb α/β , permet de réduire les lésions d'I/R *ex vivo* [38]. Il en est de même dans un modèle murin d'infarctus du myocarde *in vivo* [39]. Dans un modèle d'insuffisance cardiaque induite par constriction trans-aortique, Rev-erb α s'est révélé être une cible intéressante [40]. Dans ce contexte, l'atténuation de l'inflammation et la réduction du recrutement des polynucléaires neutrophiles et des macrophages pro-inflammatoires pourraient en effet, au moins en partie, contribuer au bénéfice du ciblage de REV-ERB α via sa modulation pharmacologique. La taille de l'infarctus est plus importante lorsque l'infarctus est provoqué à ZT13 (*zeitgeber time*⁴, début de la phase active) que lorsqu'il est induit à ZT5 (milieu de la phase de repos), c'est-à-dire lorsque le nombre de monocytes cardiaques Ly6C^{high} est le plus élevé, probablement en raison d'un recrutement accru de ces cellules par CCR2 [41]. Ces données, ainsi que l'observation que REV-ERB α contrôle l'activation de l'inflammasome NLRP3 des macrophages, suggèrent un possible rôle de REV-ERB α présent dans les monocytes/macrophages dans la tolérance à l'I/R. D'ailleurs, l'activation de REV-ERB α au moment de la reperfusion chez la souris limite la taille de la zone infarctée, améliore la fonction cardiaque, et réduit le recrutement des polynucléaires neutrophiles et des macrophages [39]. Notons qu'au-delà du contrôle de l'inflammation, la régulation circadienne du métabolisme des cardiomyocytes par REV-ERB α/β pourrait être une cible de chronothérapie pour le traitement de l'insuffisance cardiaque et de la cardiomyopathie dilatée [42].

Le choc septique

Le choc septique est associé à une altération de la réponse immunitaire, à l'origine d'une réponse pro-inflammatoire exacerbée. Chez la souris, en réponse à une charge bactérienne ou à un choc endotoxique par injection de lipopolysaccharide (LPS), la mortalité des animaux par septicémie varie au cours de la journée [19]. Elle est plus élevée lorsque l'injection a lieu au début de la phase active de la souris. Ceci peut être expliqué, entre autres, par les oscillations diurnes observées dans l'abondance de monocytes pro-inflammatoires Ly6C^{hi}, qui sont sous le contrôle de BMAL1

[21]. Une perforation du cæcum, après ligature au cours de la phase active chez la souris, entraîne également un phénotype plus sévère et une mortalité accélérée par rapport à la même intervention pratiquée pendant la phase de repos, alors que cette variation circadienne est perdue dans un modèle murin d'altération de l'horloge biologique. Ceci s'expliquerait par la régulation, par l'horloge, de l'expression du récepteur TLR2 (*Toll-like receptor 2*) par les macrophages.

Les colites

L'inflammasome NLRP3 a été identifié comme un médiateur central de l'inflammation intestinale dans la colite induite par le DSS (dextran sulfate de sodium), un modèle de colite ulcéreuse (ou rectocolite hémorragique). En accord avec le rôle de l'horloge dans la régulation de l'activation de l'inflammasome NLRP3, la colite induite par le DSS est plus sévère dans les modèles murins de perturbation de l'horloge, environnementale ou génétique [24]. Les souris dont le gène codant REV-ERB α a été invalidé, chez lesquelles l'activation de la voie de l'inflammasome NLRP3 est accrue, présentent un phénotype plus sévère que les souris contrôle. L'activation pharmacologique de REV-ERB α/β atténue au contraire la colite.

L'hépatite fulminante

L'hépatite fulminante est une maladie hépatique à évolution rapide associée à une encéphalopathie, pouvant entraîner le décès du patient. De nombreux facteurs peuvent être à l'origine de cette maladie, dont une infection par un virus (virus de l'hépatite virale A ou B, le plus souvent), des maladies métaboliques et génétiques, ainsi que l'absorption de composés toxiques ou médicamenteux (le surdosage en acétaminophène, ou paracétamol, restant actuellement la principale cause d'hépatite fulminante). L'accumulation d'acétaminophène conduit à la production de grandes quantités de métabolites toxiques provoquant un stress oxydant, une dysfonction mitochondriale et la mort hépatocellulaire, avec la sécrétion de DAMP et l'activation de l'inflammasome NLRP3 associée à l'augmentation de sécrétion d'IL-1 β par les macrophages. REV-ERB α contrôlant l'inflammasome NLRP3 dans ce contexte, la susceptibilité à l'hépatite dépend du moment de la journée. Chez la souris, la délétion du gène codant REV-ERB α entraîne une hépatite fulminante plus sévère que celle observée chez les souris contrôle. Les lésions hépatiques sont par contre diminuées par l'activation pharmacologique de REV-ERB, améliorant le taux de survie des animaux (70 % des souris traitées, comparés à 10 % dans le groupe témoin) [23].

⁴ *Zeitgeber time* est une unité de temps fondée sur la période d'un synchronisateur, comme un cycle 12 h lumière/12 h obscurité. Par convention, ZT0 correspond au moment où la lumière s'allume et ZT12 au moment de l'extinction de la lumière dans un environnement contrôlé.

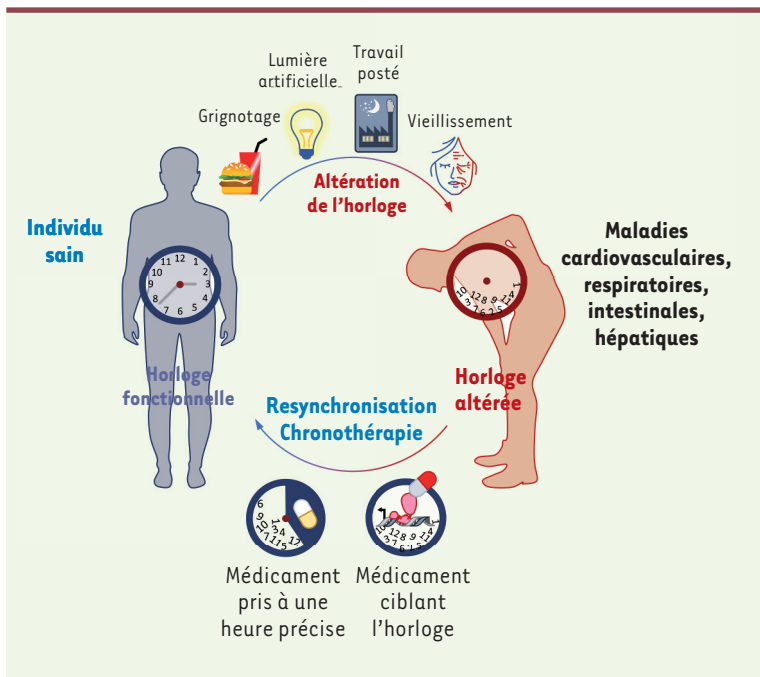


Figure 5. Maladies inflammatoires associées à une altération du rythme et chronothérapie. Les altérations du rythme circadien provoquées par le travail posté, l'exposition à la lumière artificielle (des écrans) la nuit, des prises alimentaires la nuit, ainsi que le vieillissement, contribuent au développement de nombreuses maladies, inflammatoires en particulier, comme les maladies cardiovasculaires, respiratoires, intestinales et hépatiques. Par conséquent, de nombreuses pistes thérapeutiques centrées sur le contrôle du rythme circadien sont envisagées, comme la prise d'un médicament à un moment de la journée où il serait plus efficace avec moins d'effets secondaires, ou comme le ciblage direct des composants de l'horloge pour resynchroniser les rythmes. En ce sens, les récepteurs nucléaires qui possèdent un domaine de liaison du ligand et qui sont impliqués dans le contrôle du rythme circadien constituent des cibles thérapeutiques privilégiées.

Les maladies pulmonaires et l'asthme allergique

Des expériences réalisées chez la souris ont montré le rôle de l'horloge biologique dans la pathogenèse des maladies pulmonaires. La réponse pulmonaire antibactérienne est en effet modulée par l'horloge circadienne, en particulier par *BMAL1* dans les cellules épithéliales. En régulant la production de la chimiokine CXCL5 (*C-X-C motif chemokine 5*), l'horloge induit un recrutement circadien des polynucléaires neutrophiles dans le poumon, un mécanisme qui dépend par ailleurs pour partie, mais pas uniquement, du récepteur des glucocorticoïdes [18, 43]. La délétion des gènes *Bmal1* [18] ou *Rev-erb α* [44] dans les cellules bronchiolaires perturbe l'expression rythmique de CXCL5, ce qui entraîne une réponse inflammatoire exacerbée au LPS et une réponse altérée à l'infection par la bactérie *Streptococcus pneumoniae*.

L'asthme est une autre maladie dont la symptomatologie est circadienne, les crises étant plus fréquentes au cours de la nuit. La dissonance entre les rythmes environnementaux vécus, par exemple par les travailleurs postés et les rythmes endogènes de ces personnes, pourrait augmenter le risque d'asthme [45, 46]. Chez la souris, la délétion de *Bmal1* ou une perturbation environnementale de l'horloge provoquée par un décalage horaire, exacerbent la bronchiolite virale aiguë causée par le virus de la grippe A [47]. Les souris qui n'expriment plus *Bmal1* présentent d'ailleurs des modifications asthmatiformes qui sont beaucoup plus importantes après l'infection, notamment en ce qui concerne la production de mucus, et une résistance accrue des voies respiratoires⁵. Dans un modèle d'asthme allergique induit par l'ovalbumine, la délétion de *Bmal1*, spécifiquement dans les cellules myéloïdes, provoque d'ailleurs une augmentation du nombre de polynucléaires éosinophiles et des

concentrations d'IL-5 [48]. L'implication de REV-ERB α a été montrée dans l'asthme allergique [49] et la délétion du gène *Rev-erb α* conduit à une diminution des réponses antivirales et à une augmentation de la réactivité aux allergènes, à l'origine d'un phénotype asthmatique. REV-ERB α agit à la fois dans les cellules épithéliales bronchiques et les cellules myéloïdes dans lesquelles il module l'amplitude de la réponse à une endotoxine inhalée, en contrôlant la réponse inflammatoire et l'activation des chimiokines [20, 44].

Discussion et perspectives : chronothérapie ou ciblage de l'horloge circadienne

La réponse aux agents pathogènes présente des variations circadiennes, notamment en raison du comportement rythmique des cellules du système immunitaire ; ces variations affectent tant la quantité de cellules circulantes et leur infiltration dans le site inflammatoire, que leur fonction (Figure 5). Il existe ainsi un rythme de la réponse aux endotoxines et à une infection par des agents pathogènes bactériens et viraux. Les symptômes associés à ces infections présentent également des oscillations orchestrées par l'horloge circadienne. Son dérèglement est à l'origine d'une augmentation du risque de maladies métaboliques, cardiovasculaires et inflammatoires chroniques. L'horloge circadienne se révèle donc être un facteur important à prendre en considération chez le patient. Une meilleure prise en compte des rythmes biologiques, avec la mise en place d'horaires de travail ou d'école adaptés au chronotype

⁵ En physiologie respiratoire, la résistance des voies respiratoires correspond à la résistance du tractus respiratoire au flux d'air durant l'inhalation ou l'expiration. C'est une mesure physique faite avec un pléthysmographe qui reflète la fonction respiratoire.

de chacun, d'une routine permettant d'améliorer le sommeil, la diminution de l'exposition à la lumière des écrans avant le coucher et une exposition à la lumière naturelle privilégiée par une activité de plein air dans la journée, ou la luminothérapie, sont autant de mesures qui permettraient de resynchroniser cette horloge (Figure 5).

Le ciblage de certains composants de l'horloge, en particulier les récepteurs nucléaires, par des composés pharmacologiques administrés au moment optimal de la journée, représente une piste thérapeutique intéressante. L'administration de médicaments à un moment précis de la journée, ou chronothérapie, peut s'avérer bénéfique pour mieux traiter ces maladies, en améliorant l'efficacité des médicaments et en réduisant les effets indésirables [50]. Si la chronothérapie est encore peu considérée dans le traitement des maladies inflammatoires, cette stratégie a pourtant été utilisée avec succès dans des maladies comme les cancers, indiquant la faisabilité et la pertinence d'une telle approche [51-53]. ♦

SUMMARY

Nuclear receptors and circadian clock: Implications for inflammatory diseases

The biological clock is a set of evolutionarily conserved "clock proteins" that generate circadian rhythms in behavior and physiological processes. The clock programs these processes at specific times of the day, allowing the organism to optimize its functions by anticipating predictable daily changes such as day/night, hence sleep/wake or feeding/fasting cycles. Modern lifestyle, i.e., exposure to light at night, shift work and irregular eating patterns and sleep schedules desynchronize the clocks residing in each organ. This dissonance is associated with an increased risk of developing various diseases such as cancer, metabolic, cardiovascular and chronic inflammatory diseases.

The response to pathogens is circadian due to the rhythmic number and behavior of the immune cells. Thus, there is a rhythmic response to endotoxins and to infection by bacterial and viral pathogens. These oscillations are also observed in symptoms that are generally more severe in the morning in cardiovascular diseases or at night in asthma for example. Chronotherapy, i.e., the administration of a pharmacological compound at the most appropriate time of the day to optimize its efficacy and reduce side effects, has been used for a long time in the treatment of cancers, in particular colorectal cancers. However, it is still little considered in the management of cardiovascular or inflammatory diseases. A better understanding of biological rhythms and/or the targeting of certain clock genes, in particular nuclear receptors, by pharmacological compounds administered at the optimal time of day, represents a promising therapeutic avenue. ♦

REMERCIEMENTS

La recherche effectuée par les auteurs est soutenue par l'Agence nationale de la recherche (ANR) « European Genomic Institute for Diabetes » E.G.I.D., ANR-10-LABX-0046, le programme Investissements d'Avenir I-SITE ULNE / ANR-16-IDEX-0004 ULNE, l'ANR (ANR-19-CE15-0033-01, ANR-20-CE14-0035), la Fondation pour la Recherche Médicale (EQU202003010310), la Fondation Française de Cardiologie, la Fondation de France. Ce projet est cofinancé par l'Union européenne dans le cadre du Fonds de développement des régions européennes (FEDER) et par le Conseil régional des Hauts-de-France (contrat

20002842), la Métropole européenne de Lille (MEL) (contrat 2020-ESR-06) et l'État français (contrat 2020-R3-CTRL_IPL_Phase4).

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

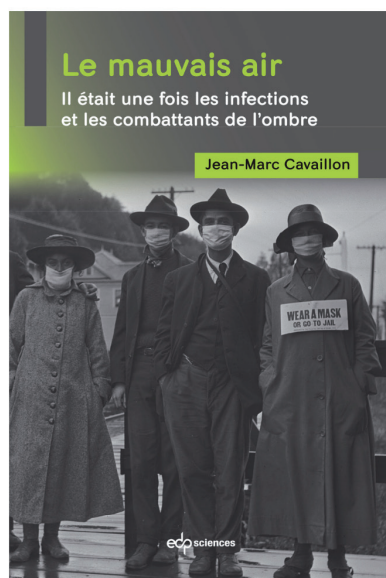
1. Bass J, Lazar MA. Circadian time signatures of fitness and disease. *Science* 2016 ; 354 : 994-9.
2. Duez H, Sebti Y, Staels B. Horloges circadiennes et métabolisme : intégration des signaux métaboliques et environnementaux. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 772-7.
3. Takahashi JS. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Genet* 2017 ; 18 : 164-79.
4. Zhang R, Lahens NF, Ballance HI, et al. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 ; 111 : 16219-24.
5. Pourcet B, Duez H. Nuclear Receptors and Clock Components in Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci* 2021 ; 22 : 9721.
6. Torra IP, Tsubulsky V, Delaunay F, et al. Circadian and glucocorticoid regulation of Rev-erbalpha expression in liver. *Endocrinology* 2000 ; 141 : 3799-806.
7. Cuesta M, Cermakian N, Boivin DB. Glucocorticoids entrain molecular clock components in human peripheral cells. *FASEB J* 2015 ; 29 : 1360-70.
8. Okabe T, Chavan R, Fonseca Costa SS, et al. REV-ERB influences the stability and nuclear localization of the glucocorticoid receptor. *J Cell Sci* 2016 ; 129 : 4143-54.
9. Lamia KA, Papp SJ, Yu RT, et al. Cryptochromes mediate rhythmic repression of the glucocorticoid receptor. *Nature* 2011 ; 480 : 552-6.
10. Nader N, Chrousos GP, Kino T. Circadian rhythm transcription factor CLOCK regulates the transcriptional activity of the glucocorticoid receptor by acetylating its hinge region lysine cluster: potential physiological implications. *FASEB J* 2009 ; 23 : 1572-83.
11. McNamara P, Seo SB, Rudic RD, et al. Regulation of CLOCK and MOP4 by nuclear hormone receptors in the vasculature: a humoral mechanism to reset a peripheral clock. *Cell* 2001 ; 105 : 877-89.
12. Nakamura TJ, Sellix MT, Menaker M, et al. Estrogen directly modulates circadian rhythms of PER2 expression in the uterus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008 ; 295 : E1025-31.
13. Dufour CR, Levasseur M-P, Pham NHH, et al. Genomic convergence among ERR α , PROX1, and BMAL1 in the control of metabolic clock outputs. *PLoS Genet* 2011 ; 7 : e1002143.
14. Horard B, Rayet B, Triqueneaux G, et al. Expression of the orphan nuclear receptor ERRA1 is under circadian regulation in estrogen-responsive tissues. *J Mol Endocrinol* 2004 ; 33 : 87-97.
15. Curtis AM, Bellet MM, Sassone-Corsi P, et al. Circadian clock proteins and immunity. *Immunity* 2014 ; 40 : 178-86.
16. Pick R, He W, Chen C-S, et al. Time-of-Day-Dependent Trafficking and Function of Leukocyte Subsets. *Trends Immunol* 2019 ; 40 : 524-37.
17. Scheiermann C, Gibbs J, Ince L, et al. Clocking in to immunity. *Nat Rev Immunol* 2018 ; 18 : 423-37.
18. Gibbs J, Ince L, Matthews L, et al. An epithelial circadian clock controls pulmonary inflammation and glucocorticoid action. *Nat Med* 2014 ; 20 : 919-26.
19. Man K, Loudon A, Chawla A. Immunity around the clock. *Science* 2016 ; 354 : 999-1003.
20. Gibbs JE, Blaikley J, Beesley S, et al. The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 582-7.
21. Nguyen KD, Fentress SJ, Qiu Y, et al. Circadian gene Bmal1 regulates diurnal oscillations of Ly6C(hi) inflammatory monocytes. *Science* 2013 ; 341 : 1483-8.
22. Gros Lambert M, Py BF. NLRP3, un inflammasome sous contrôle. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 47-53.
23. Pourcet B, Zecchin M, Ferri L, et al. Nuclear Receptor Subfamily 1 Group D Member 1 Regulates Circadian Activity of NLRP3 Inflammasome to Reduce the Severity of Fulminant Hepatitis in Mice. *Gastroenterology* 2018 ; 154 : 1449-64.e20.

RÉFÉRENCES

24. Wang S, Lin Y, Yuan X, et al. REV-ERB α integrates colon clock with experimental colitis through regulation of NF- κ B/NLRP3 axis. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 4246.
25. Millar-Craig MW, Bishop CN, Raftery EB. Circadian variation of blood-pressure. *Lancet* 1978 ; 1 : 795-7.
26. Puttonen S, Kivimäki M, Elovainio M, et al. Shift work in young adults and carotid artery intima-media thickness: The Cardiovascular Risk in Young Finns study. *Atherosclerosis* 2009 ; 205 : 608-13.
27. Morris CJ, Purvis TE, Mistretta J, et al. Circadian Misalignment Increases C-Reactive Protein and Blood Pressure in Chronic Shift Workers. *J Biol Rhythms* 2017 ; 32 : 154-64.
28. Bøggild H, Knutsson A. Shift work, risk factors and cardiovascular disease. *Scand J Work Environ Health* 1999 ; 25 : 85-99.
29. Ma H, Zhong W, Jiang Y, et al. Increased atherosclerotic lesions in LDL receptor deficient mice with hematopoietic nuclear receptor Rev-erb α knock-down. *J Am Heart Assoc* 2013 ; 2 : e000235.
30. Duwell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature* 2010 ; 464 : 1357-61.
31. Huo M, Huang Y, Qu D, et al. Myeloid Bmal1 deletion increases monocyte recruitment and worsens atherosclerosis. *FASEB J* 2017 ; 31 : 1097-106.
32. Yang G, Zhang J, Jiang T, et al. Bmal1 Deletion in Myeloid Cells Attenuates Atherosclerotic Lesion Development and Restrains Abdominal Aortic Aneurysm Formation in Hyperlipidemic Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2020 ; 40 : 1523-32.
33. McAlpine CS, Kiss MG, Rattik S, et al. Sleep modulates haematopoiesis and protects against atherosclerosis. *Nature* 2019 ; 566 : 383-7.
34. Schilperoord M, Berg R van den, Bosmans LA, et al. Disruption of circadian rhythm by alternating light-dark cycles aggravates atherosclerosis development in APOE*3-Leiden.CETP mice. *J Pineal Res* 2020 ; 68 : e12614.
35. Winter C, Silvestre-Roig C, Ortega-Gomez A, et al. Chrono-pharmacological Targeting of the CCL2-CCR2 Axis Ameliorates Atherosclerosis. *Cell Metab* 2018 ; 28 : 175-82.e5.
36. Alibhai FJ, Tsimakouridze EV, Chinnapparedy N, et al. Short-term disruption of diurnal rhythms after murine myocardial infarction adversely affects long-term myocardial structure and function. *Circ Res* 2014 ; 114 : 1713-22.
37. Durgan DJ, Pulinkunnil T, Villegas-Montoya C, et al. Short communication: ischemia/reperfusion tolerance is time-of-day-dependent: mediation by the cardiomyocyte circadian clock. *Circ Res* 2010 ; 106 : 546-50.
38. Montaigne D, Marechal X, Modine T, et al. Daytime variation of perioperative myocardial injury in cardiac surgery and its prevention by Rev-Erb α antagonism: a single-centre propensity-matched cohort study and a randomised study. *Lancet* 2018 ; 391 : 59-69.
39. Reitz CJ, Alibhai FJ, Khatua TN, et al. SR9009 administered for one day after myocardial ischemia-reperfusion prevents heart failure in mice by targeting the cardiac inflammasome. *Commun Biol* 2019 ; 2 : 153.
40. Zhang L, Zhang R, Tien C-L, et al. REV-ERB α ameliorates heart failure through transcription repression. *JCI Insight* 2017 ; 2 : 95177.
41. Schloss MJ, Hilby M, Nitz K, et al. Ly6Chigh Monocytes Oscillate in the Heart During Homeostasis and After Myocardial Infarction-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017 ; 37 : 1640-5.
42. Song S, Tien C-L, Cui H, et al. Myocardial Rev-erb-Mediated Diurnal Metabolic Rhythm and Obesity Paradox. *Circulation* 2022 ; 145 : 448-64.
43. Ince LM, Zhang Z, Beesley S, et al. Circadian variation in pulmonary inflammatory responses is independent of rhythmic glucocorticoid signaling in airway epithelial cells. *FASEB J* 2019 ; 33 : 126-39.
44. Pariollaud M, Gibbs JE, Hopwood TW, et al. Circadian clock component REV-ERB α controls homeostatic regulation of pulmonary inflammation. *J Clin Invest* 2018 ; 128 : 2281-96.
45. Maidstone RJ, Turner J, Vetter C, et al. Night shift work is associated with an increased risk of asthma. *Thorax* 2021 ; 76 : 53-60.
46. Scheer FAJL, Hilton MF, Evoniuk HL, et al. The endogenous circadian system worsens asthma at night independent of sleep and other daily behavioral or environmental cycles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021 ; 118 : e2018486118.
47. Ehlers A, Xie W, Agapov E, et al. BMAL1 links the circadian clock to viral airway pathology and asthma phenotypes. *Mucosal Immunol* 2018 ; 11 : 97-111.
48. Zasłona Z, Case S, Early JO, et al. The circadian protein BMAL1 in myeloid cells is a negative regulator of allergic asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2017 ; 312 : L855-60.
49. Durrington HJ, Krakowiak K, Meijer P, et al. Circadian asthma airway responses are gated by REV-ERB α . *Eur Respir J* 2020 ; 56 : 1902407.
50. Cederroth CR, Albrecht U, Bass J, et al. Medicine in the Fourth Dimension. *Cell Metab* 2019 ; 30 : 238-50.
51. Printezi MI, Kilgallen AB, Bond MJG, et al. Toxicity and efficacy of chronomodulated chemotherapy: a systematic review. *Lancet Oncol* 2022 ; 23 : e129-43.
52. Lévi F. Daytime versus evening infusions of immune checkpoint inhibitors. *Lancet Oncol* 2021 ; 22 : 1648-50.
53. Lévi F, Okyar A, Dulong S, et al. Circadian timing in cancer treatments. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2010 ; 50 : 377-421.

TIRÉS À PART

H. Duez



'Wear a mask or go to jail'

L'histoire du combat contre les infections

L'auteur relate les efforts des savants tout au long de l'histoire pour lutter contre les infections, offrir les traitements antiseptiques ou antibiotiques, et prévenir les maladies infectieuses. Il rappelle l'usage des masques initié au XVII^e siècle, l'extraordinaire saga de la vaccination accompagnée de la concomitante réticence face aux vaccins. Il met en parallèle de surprenantes analogies entre des événements historiques et des événements associés à la pandémie de COVID-19.

ISBN : 978-2-7598-2678-0 342 pages - 24€ TTC
En vente sur la boutique.edpsciences.org