

NO, un modulateur de l'expression génétique ?

La découverte récente de la biosynthèse du monoxyde d'azote (le gaz NO) par les cellules de mammifères a suscité un intérêt grandissant au fur et à mesure que ses implications apparaissaient dans plusieurs fonctions biologiques essentielles [1]. Les nombreuses isoformes de la *nitric oxide synthase* (NO synthase), enzyme catalysant la synthèse du NO, appartiennent à deux types principaux : l'un est constitutif et, en réponse à un flux de calcium, produit de faibles quantités de NO qui active une guanylate cyclase héminique. NO a alors un rôle de messenger et est responsable de fonctions physiologiques dans le système cardiovasculaire et le système nerveux. L'autre NO synthase, dont l'induction au niveau transcriptionnel est sous le contrôle du réseau des cytokines, produit de plus grandes quantités (au moins 100 fois plus) de NO. Cette enzyme est responsable d'effets physio-pathologiques : NO, à forte dose, est potentiellement toxique. Les conséquences au niveau moléculaire de la synthèse de NO par les NO synthases de type inductible sont encore mal précisées. On connaît, cependant, plusieurs enzymes dont l'activité est très sensible au NO, en particulier des metalloprotéines dont le fer est essentiel à la catalyse, telle l'aconitase du cycle de Krebs qui catalyse l'interconversion du citrate en isocitrate dans la mitochondrie. L'affinité de NO pour le fer est bien connue et il a été proposé que la formation de complexes Fe-NO est la cause de l'inhibition de l'aconitase par NO [2, 3].

On savait depuis longtemps qu'une aconitase est aussi présente dans le cytosol mais elle n'avait pas suscité beaucoup d'intérêt car son rôle

physiologique était mal défini. Des travaux récents sont venus l'auréoler en montrant qu'elle n'est autre que l'*iron regulatory factor* (IRF), un modulateur post-transcriptionnel de gènes qui ajustent la concentration intracellulaire du fer (voir revues [4, 5]). En cas de carence en fer intracellulaire, l'IRF, parfois appelée *iron responsive element-binding protein* (IRE-BP), se lie à un, ou des, élément(s) régulateur(s) en *cis* appelé(s) *iron responsive element* (IRE), commun(s) aux ARNm des chaînes lourde et légère de la ferritine et du récepteur de la transferrine, respectivement en 5' et en 3' de la région non traduite. Cette liaison inhibe la traduction de la ferritine et accroît la stabilité des ARNm du récepteur de la transferrine (figure 1). La purification et le clonage de cette

protéine ont d'abord révélé qu'elle a une forte homologie avec l'aconitase du cycle de Krebs dans la mitochondrie ; on sait aujourd'hui qu'il s'agit de l'aconitase cytoplasmique. Cette molécule possède donc une double personnalité intrigante : une activité enzymatique, dont la fonction est encore mal évaluée, et une activité de régulation génétique. Pourtant, les deux fonctions semblent liées car elles ne peuvent s'exprimer simultanément. L'explication vient probablement du fait que cette protéine, comme l'aconitase mitochondriale, possède un groupement prosthétique [4Fe-4S] dont l'intégrité est à la fois essentielle pour la catalyse enzymatique et un obstacle à la liaison de l'IRF sur l'élément actif en *cis* de l'ARN [6]. Cette structure inorgani-

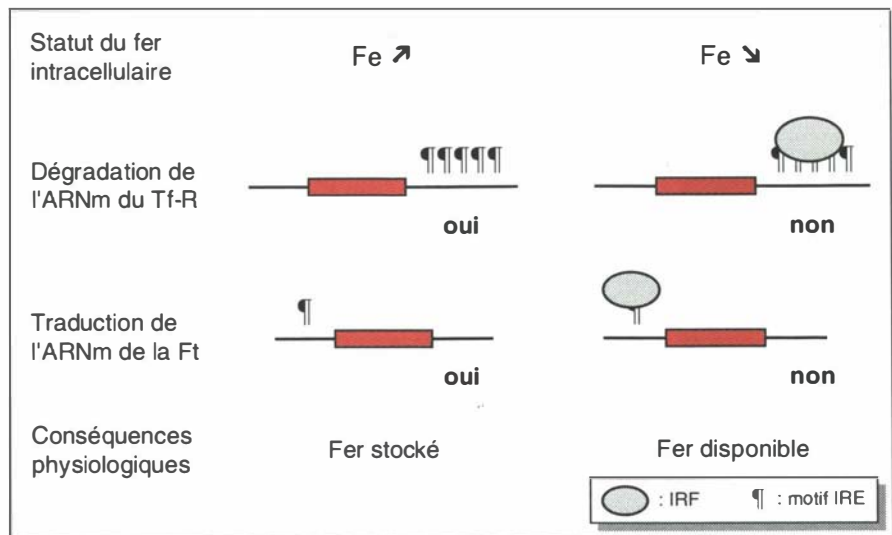


Figure 1. Régulation par l'IRF de la concentration intracellulaire de fer. Ft : ferritine ; Tf-R : récepteur de la transferrine.

que, présente dans de nombreuses protéines en tant que transporteur d'électrons, se révèle ici, pour la première fois, critique dans un phénomène de régulation génétique.

Deux équipes, celle de J.-C. Drapier de l'Institut Curie (Paris, France) et celle de L.C. Kühn (ISREC, Épalinges, France), viennent de montrer que NO, synthétisé par la NO synthase inductible, ou délivré de façon exogène sous forme de gaz, ou à partir d'un précurseur chimique, module de façon inverse les activités aconitase et *trans*-activatrice de l'IRF [7]. L'activation de macrophages murins par des immunostimulants (IFN- γ ou lipopolysaccharide) entraîne une perte de l'activité aconitase, accompagnée par un très net accroissement de l'activité *trans*-activatrice de l'IRF. En revanche, l'inhibition de la synthèse de NO par des analogues de la L-arginine prévient, à la fois la perte de l'activité enzymatique, et la formation du complexe entre l'IRF et l'IRE. A cette étape, la voie de biosynthèse L-arginine \rightarrow NO semblait impliquée dans la régulation des activités de l'IRF. Le nitrite, le nitrate et la citrulline, les produits finaux stables de la réaction, n'avaient aucun effet, même à des doses élevées. Pour prouver définitivement que NO était l'effecteur, ils ont incubé de l'IRF recombinant purifié avec le SIN-1, un dérivé de la molsidomine qui se décompose spontanément en NO, et avec une solution saturée en gaz NO. Dans les deux cas, l'activité *trans*-activatrice de l'IRF recombinant était nettement augmentée, tandis que l'activité aconitase était inhibée.

En réponse à NO, les deux activités de l'IRF sont donc modulées dans des sens opposés, ce qui est un argument pour désigner le centre Fe-S comme cible de NO. En effet, on peut faire l'hypothèse que NO, en se fixant à l'un des atomes de fer du centre Fe-S ou en le modifiant, préviendrait non seulement la liaison du substrat mais induirait aussi un changement conformationnel favorisant l'exposition du domaine de liaison à l'IRE (figure 2). On peut aussi proposer que NO favorise la liaison de l'IRE en se fixant sur un groupement

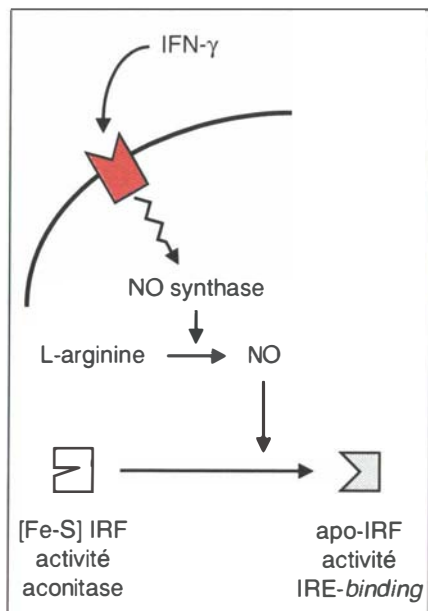


Figure 2. **Modèle montrant l'implication présumée de NO dans la modulation des activités de l'IRF.**

thiol essentiel du domaine de liaison ou en changeant le potentiel d'oxydo-réduction local.

Les activités enzymatique et *trans*-activatrice de l'IRF sont donc inversement modulées par NO en réponse à un processus physiologique, comme une stimulation par l'IFN- γ . Il est ainsi démontré que NO, produit de façon endogène, est susceptible d'interférer avec une régulation génétique. On peut s'attendre, en effet, à une stabilisation du messenger du récepteur de la transferrine et à la prévention de l'initiation de la traduction de la ferritine, ce qui bouleverserait le métabolisme du fer intracellulaire. Par ailleurs, des motifs IRE ont été récemment identifiés sur les ARNm de deux autres protéines de cellules eucaryotes : la 5-amino-lévulinate synthase des érythrocytes, qui intervient dans la synthèse de l'hème et ... l'aconitase mitochondriale. Une modulation par NO de l'expression génétique de ces protéines reste à démontrer mais signalons que G. Weiss *et al.* [8], qui ont obtenu des résultats similaires à ceux-ci, ont rapporté que la biosynthèse de la ferritine est inhibée par NO.

On peut donc envisager un nouveau rôle effecteur pour NO : un contrôle au niveau génétique, en réagissant avec des activateurs transcriptionnels ou post-transcriptionnels.

Jean-Claude Drapier

1. Drapier JC, Pellat C, Henry Y. Generation of EPR-detectable nitrosyl-iron complexes in tumor target cells cocultured with activated macrophages. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 10162-7.
2. Hibbs JB Jr, Taintor RR, Vavrin Z, Granger DL, Drapier JC, Amber IJ, Lancaster JR Jr. Synthesis of nitric oxide from a guanidino nitrogen of L-arginine : a molecular mechanism that targets intracellular iron. In : Moncada S and Higgs EA, eds. *Nitric oxide from L-arginine : a bio regulatory system*. Amsterdam : Elsevier, 1990 : 189-223.
3. Kennedy MC, Mende-Mueller L, Blondin GA, Beinert H. Purification and characterization of cytosolic aconitase from beef liver and its relationship to the iron-responsive element binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 11730-4.
4. Klausner RD, Rouault TA, Harford JB. Regulating the fate of mRNA : the control of cellular iron metabolism. *Cell* 1993 ; 72 : 19-28.
5. Kühn LC, Hentze MW. Coordination of cellular iron metabolism by post-transcriptional gene regulation. *J Inorganic Biochem* 1992 ; 47 : 183-9.
6. Nathan CF. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992 ; 6 : 3051-60.
7. Drapier JC, Hirling H, Wietzerbin J, Kaldy P, Kühn LC. Biosynthesis of nitric oxide activates iron regulatory factor in macrophages. *EMBO J* 1993 ; 12 : 3643-9.
8. Weiss G, Goossen B, Doppler W, Fuchs D, Pantopoulos K, Werner-Felmayer G, Wachter H, Hentze MW. Translational regulation via iron-responsive elements by the nitric oxide/NO synthase pathway. *EMBO J* 1993 ; 12 : 3651-7.