



malades (sérum anti-lymphocytaire, fludarabine, ciclosporine, mycophénolate mofétil, etc.), peut inhiber une réponse immune efficace, et met donc l'accent sur la nécessité d'ajouter à l'allo-CSH d'autres stratégies d'immunothérapie comme la vaccination par cellules dendritiques ou la manipulation des effecteurs avant réinjection des lymphocytes du donneur, capables d'induire à long terme un véritable effet GVT avec contrôle durable et efficace de la maladie. ♦

Segregating effectors for graft versus host and graft versus tumor reactions

RÉFÉRENCES

1. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, *et al.* Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 555-62.
2. Weiden PL, Sullivan KM, Flournoy N, Storb R, Thomas ED. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1981; 304: 1529-33.
3. Maraninchi D, Gluckman E, Blaise D, *et al.* Impact of T-cell depletion on outcome of allogeneic bone-marrow transplantation for standard-risk leukaemias. *Lancet* 1987; 2: 175-8.
4. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, *et al.* Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. European group for blood and marrow transplantation working party chronic leukemia. *Blood* 1995; 86: 2041-50.
5. Falkenburg JH, Wafelman AR, Joosten P, *et al.* Complete remission of accelerated phase chronic myeloid leukemia by treatment with leukemia-reactive cytotoxic T lymphocytes. *Blood* 1999; 94: 1201-8.
6. Michalek J, Collins RH, Durrani HP, *et al.* Definitive separation of graft-versus-leukemia- and graft-versus-host-specific CD4⁺ T cells by virtue of their receptor beta loci sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 1180-4.
7. Childs R, Chernoff A, Contentin N, *et al.* Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2000; 343: 750-8.

NOUVELLE

Rôles physiologiques de l'AMP-activated protein kinase (AMPK)

Fabrizio Andreelli, Benoît Viollet, Sophie Vaulont

Département de génétique développement et pathologie moléculaire, Inserm-Cnrs, Institut Cochin, Faculté de Médecine Cochin-Port-Royal, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
andreelli@cochin.inserm.fr

► L'AMP-activated protein kinase (AMPK), enzyme ubiquitaire, est proposée comme le détecteur métabolique de la cellule lui permettant de s'adapter aux modifications de son environnement [1]. L'AMPK est un complexe trimérique constitué d'une sous-unité catalytique α et de deux sous-unités régulatrices β et γ . Il existe deux isoformes α ($\alpha 1$ et $\alpha 2$), deux isoformes β ($\beta 1$ et $\beta 2$) et trois isoformes γ ($\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$) [1]. Chacune de ces isoformes est codée par un gène différent. L'AMPK est activée physiologiquement par l'augmentation de la concentration intracellulaire en AMP lors des situations de carence énergétique cellulaire (hypoxie, hypoglycémie et exercice physique) [2]. L'activation de l'AMPK réduit les voies métaboliques consommatrices d'énergie (comme la lipogenèse ou la synthèse stéroïdienne) et augmente les voies productrices d'ATP (comme l'oxydation des acides gras). Grâce au 5-amino-imidazolecarboxamide riboside (AICAR), analogue non

métabolisable de l'AMP capable d'activer l'AMPK, les rôles de l'AMPK ont pu être peu à peu précisés *in vitro* [2] et *in vivo* [3, 4]. Dans le muscle, l'activation de l'AMPK stimule l'augmentation du captage insulino-indépendant du glucose [2] et l'oxydation des acides gras [2]. On connaît le rôle de la leptine dans l'augmentation de l'oxydation musculaire des acides gras, mais cet effet nécessite l'activation de l'AMPK [5]. Dans le foie, l'activation de l'AMPK par l'AICAR diminue la néoglucogenèse *in vitro* [6] et la production hépatique de glucose *in vivo* [3, 6]. Les effets métaboliques de l'AMPK que nous venons de décrire dépendent surtout de l'isoforme catalytique $\alpha 2$ de l'AMPK [2]. Ainsi, en stimulant le captage de glucose insulino-indépendant et l'oxydation lipidique des acides gras dans le muscle, et en diminuant la production hépatique de glucose, l'activation de l'AMPK pourrait avoir des effets bénéfiques sur les anomalies métaboliques observées

au cours du diabète de type 2 et de l'obésité [2]. Pour mieux connaître les rôles physiologiques de l'isoforme catalytique $\alpha 2$ de l'AMPK sans avoir à utiliser de moyens pharmacologiques comme l'AICAR, nous avons créé au laboratoire un modèle de rongeurs dont le gène codant pour cette sous-unité a été invalidé [7]. Les souris *AMPK $\alpha 2$ ^{-/-}* n'ont pas d'anomalies apparentes. Ces souris ont, après un jeûne court, une glycémie et une insulémie similaires à celles des souris témoins. Lorsque l'apport nutritif n'est pas limité, et lors d'une hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale, on observe chez les souris mutantes une hyperglycémie associée à une sécrétion réduite d'insuline. De manière surprenante, la sécrétion d'insuline chez ces animaux, mesurée après exposition *in vitro* d'îlots pancréatiques isolés à une large gamme de concentrations de glucose (de 3 à 25 mM), est normale. Par ailleurs, le contenu en insuline et l'expres-

sion du gène de l'insuline dans les cellules β pancréatiques sont similaires chez les souris $AMPK\alpha2^{-/-}$ et les souris témoins. Ces observations suggèrent fortement que le défaut de sécrétion d'insuline observé *in vivo* chez les souris $AMPK\alpha2^{-/-}$ est lié à un défaut de régulation de la sécrétion d'insuline en situation de charge en glucose. Nous avons pu exclure des facteurs dont on sait qu'ils altèrent le contrôle de la sécrétion d'insuline chez le rongeur comme l'hyperleptinémie, l'accumulation d'acides gras dans la cellule β pancréatique ou l'hypokaliémie. L'équilibre entre les tonus sympathique et parasympathique est connu pour être un des facteurs clés de la régulation de la sécrétion d'insuline *in vivo*. Pour déterminer si une altération du système nerveux autonome explique les anomalies des souris $AMPK\alpha2^{-/-}$, nous avons traité ces souris par un antagoniste des récepteurs α -adrénergiques. Ce traitement a normalisé la cinétique de l'hyperglycémie des souris $AMPK\alpha2^{-/-}$ provoquée par voie intrapéritonéale. Ce résultat, associé à l'existence d'une excrétion urinaire accrue en catécholamines, démontre que l'exagération du tonus sympathique est bien responsable du défaut de sécrétion d'insuline observé chez les souris $AMPK\alpha2^{-/-}$.

La technique du *clamp* euglycémique hyper-insulinémique* révèle par ailleurs que les souris $AMPK\alpha2^{-/-}$ présentent une résistance à l'insuline au niveau musculaire. Cette résistance est secondaire à un défaut de synthèse de glycogène dans le muscle squelettique au cours du *clamp*. Le tonus sympathique exagéré est-il suffisant pour expliquer la résistance à l'insuline des souris $AMPK\alpha2^{-/-}$? Puisque le *clamp* étudie la sensibilité à l'insuline du muscle squelettique, ne pouvait-on pas plutôt expliquer cette résistance par l'absence de la sous-unité $\alpha2$ dans le muscle? Pour le savoir, nous avons étudié la sensibilité à l'insuline d'un modèle de dominant négatif musculaire de l'AMPK. La sensibilité à l'insuline

normale dans ce modèle suggère que l'absence d'activité AMPK dans le muscle ne peut pas à elle seule expliquer le phénotype observé [7].

Les souris $AMPK\alpha2^{-/-}$ présentent donc des anomalies métaboliques *in vivo* (réduction de la sécrétion de l'insuline et résistance à l'hormone, défaut de synthèse de glycogène musculaire) qui peuvent être expliquées par un tonus sympathique exagéré. Ces anomalies métaboliques n'existent qu'en période de charge en glucose (hyperglycémie provoquée, apport de nourriture, *clamp* euglycémique) et sont indétectables à jeun. On sait que le cerveau (en particu-

lier l'hypothalamus) intègre les signaux métaboliques périphériques pour modifier en retour, grâce au système nerveux autonome, la sécrétion d'insuline et la sensibilité du muscle à cette hormone. Ainsi, nos travaux montrent que l'absence de la sous-unité $\alpha2$ de l'AMPK dans le cerveau provoque une exagération du tonus sympathique qui altère le métabolisme des organes périphériques (Figure 1). Il faut donc inclure la sous-unité $\alpha2$ de l'AMPK à la liste des effecteurs contrôlant le métabolisme *via* le système nerveux autonome. \diamond

AMPK, control of insulin secretion and resistance

RÉFÉRENCES

1. Hardie DG, Carling D, Carlson M. The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell? *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 821-55.
2. Winder WW, Hardie DG. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol* 1999; 277: E1-10.
3. Bergeron R, Previs SF, Cline GW, et al. Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside infusion on *in vivo* glucose and lipid metabolism in lean and obese Zucker rats. *Diabetes* 2001; 50: 1076-82.
4. Bergeron R, Russell RR, Young LH, et al. Effect of AMPK activation on muscle glucose metabolism in conscious rats. *Am J Physiol* 1999; 276: E938-44.
5. Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, et al. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 2002; 415: 339-43.
6. Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001; 108: 1167-74.
7. Viollet B, Andreelli F, Jorgensen SB, et al. The AMP-activated protein kinase $\alpha2$ catalytic subunit controls whole body insulin sensitivity. *J Clin Invest* 2003; 111: 91-8.

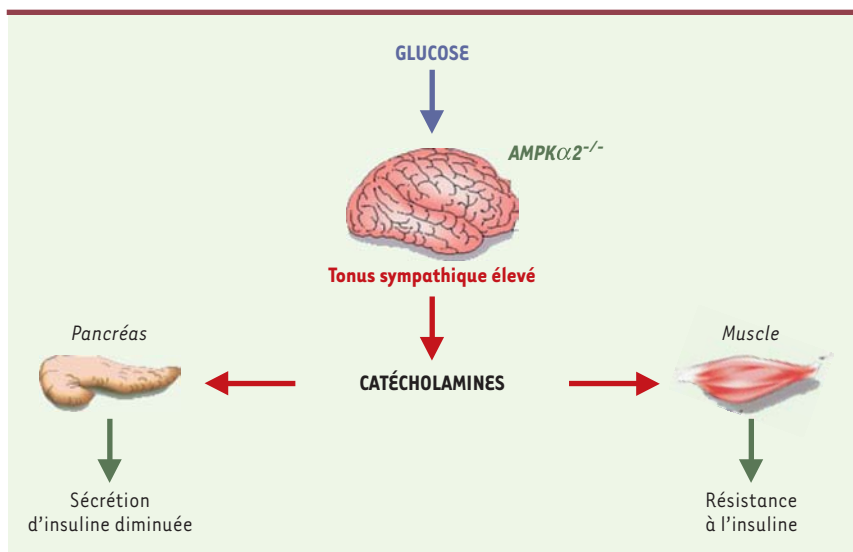


Figure 1. Impact sur le métabolisme périphérique de l'absence de la sous-unité $\alpha2$ de l'AMPK.

L'absence de la sous-unité $\alpha2$ de l'AMPK dans le cerveau altère le tonus sympathique, ce qui provoque la réduction de la sécrétion d'insuline et de la sensibilité à l'insuline du muscle. La sous-unité $\alpha2$ de l'AMPK cérébrale participe au contrôle du métabolisme périphérique en modulant principalement l'activité du système nerveux autonome.

* Il s'agit d'une technique classique de mesure des effets métaboliques de l'insuline: pratiquement, l'insuline est administrée *in vivo* à un taux constant pendant 3-4 h, et le taux de glucose est maintenu stable par l'injection concomitante de glucose. Cela permet l'évaluation des effets de l'insuline indépendamment de son effet sur la glycémie.