



Un nouveau mode de régulation de FoxO1 par O-glycosylation

Implication dans le phénomène de glucotoxicité

MeiShiue Kuo, Vladimir Zilberfarb, Nicolas Gangneux, Névéna Christeff, Tarik Issad

Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104), Inserm, U567, 22, rue Méchain, 75014 Paris, France. issad@cochin.inserm.fr

O-glycosylations des protéines et disponibilité en glucose

La mono-O-glycosylation des protéines, découverte en 1984, correspond à l'addition, *via* une réaction enzymatique, de N-acétyl glucosamine (GlcNAc) sur le résidu hydroxyl d'une sérine ou d'une thréonine [1, 2]. Cette modification réversible, qui peut se faire dans le cytoplasme ou le noyau, doit être distinguée des glycosylations complexes qui, dans le réticulum endoplasmique et le Golgi, modifient de façon stable les protéines membranaires ou sécrétées. De façon analogue aux phosphorylations, les O-glycosylations cytosoliques ou nucléaires peuvent moduler l'activité, la localisation ou la stabilité des protéines. Cependant, contrairement à la pléiade de kinases et phosphatases qui régulent les phosphorylations, seules deux enzymes sont impliquées dans le contrôle de ces O-glycosylations (Figure 1). L'enzyme permettant la réaction de O-glycosylation est la *O*-linked *N*-acetyl-glucosamine transferase (OGT). Les protéines O-glycosylées peuvent être rapidement déglycosylées par une autre enzyme, la β -N-acétylglucosaminidase (O-GlcNAcase) (Figure 1).

Une fraction (2-5 %) du glucose entrant dans la cellule est converti en UDP-N-acétyl glucosamine (UDP-GlcNAc), par la voie de biosynthèse des hexosamines. Le niveau d'UDP-GlcNAc dans la cellule reflète le flux de glucose à travers cette voie. L'OGT peut donc être considérée comme un « senseur métabolique du glucose », capable de modifier les protéines en fonction des changements de disponibilité en glucose. Un raffinement supplémentaire dans les

possibilités de régulation des protéines est introduit par le fait qu'un même résidu sérine ou thréonine peut être soit O-glycosylé, soit phosphorylé, les deux modifications étant mutuellement exclusives (phénomène de Yin-Yang).

Ce mode de régulation des protéines constitue un domaine de recherche fascinant, qui pourrait bouleverser de nombreux champs de la biologie. En effet, dans la mesure où le glucose représente le substrat énergétique le plus largement

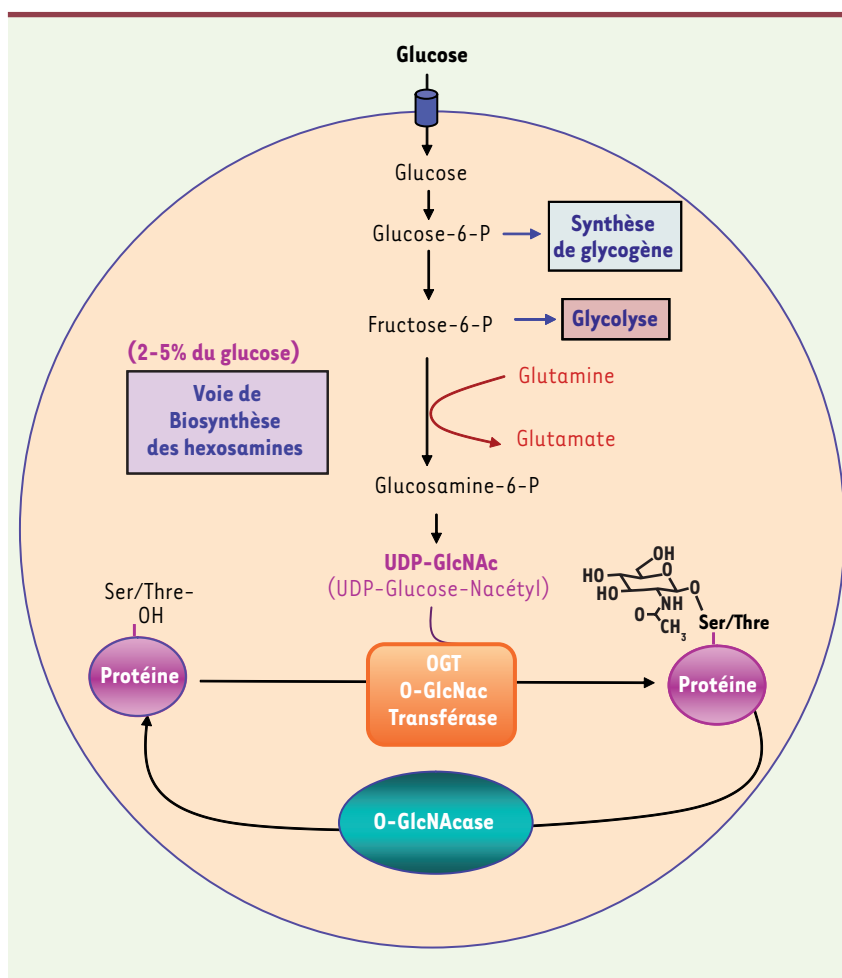


Figure 1. Régulation de l'activité fonctionnelle des protéines par O-glycosylation/déglycosylation sur sérine ou thréonine.

utilisé par les êtres vivants, une régulation fine de l'activité des protéines en fonction de sa disponibilité constitue certainement un aspect majeur, encore relativement peu exploré, du fonctionnement normal de la cellule. En outre, ces mécanismes de O-glycosylation pourraient être particulièrement importants dans les situations où les concentrations de glucose sont chroniquement altérées, comme c'est le cas chez les patients obèses ou diabétiques.

O-glycosylation de FoxO1 et induction de la glucose-6-phosphatase

FoxO1 appartient à une famille de facteurs de transcription contrôlant l'expression de gènes impliqués dans des processus cellulaires fondamentaux, comme l'apoptose, la réponse au stress oxydant, la prolifération cellulaire, la différenciation cellulaire et la régulation du métabolisme énergétique [3]. Plusieurs modifications post-traductionnelles (phosphorylations, acétylations, ubiquitinations) peuvent moduler l'activité de ce facteur de transcription. Dans la mesure où FoxO1 joue un rôle majeur dans la régulation du métabolisme énergétique, nous avons émis l'hypothèse que ce facteur pourrait également être régulé par O-glycosylation. Nous avons ainsi montré, pour la première

fois, que les traitements qui augmentent la O-glycosylation des protéines (fortes concentrations en glucose, glucosamine) ou qui inhibent leur déglycosylation (inhibiteur de l'enzyme O-GlcNAcase), induisent la O-glycosylation de FoxO1 [4]. Nous avons également montré, dans les cellules HEK293 et dans les cellules hépatocytaires HepG2, que ces traitements stimulent l'expression d'un gène rapporteur comprenant le promoteur de la glucose 6-phosphatase (G6Pase) en amont d'une luciférase, sans aucune modification de la concentration intracellulaire (stabilité) ou de la localisation sub-cellulaire de FoxO1 (noyau versus cytoplasme). Les effets de ces traitements sont augmentés par la surexpression de FoxO1 ou de l'OGT et sont abolis par des siRNA inhibant l'expression de FoxO1 suggérant un lien causal direct avec FoxO1 [4]. Nous avons par ailleurs montré, par RT-PCR en temps réel, que l'expression endogène du gène de la G6Pase est augmentée par les traitements induisant la O-glycosylation de FoxO1 dans les cellules HepG2 [4]. L'expression d'autres gènes cibles de FoxO1 (*insulin-like growth factor binding protein 1*, *peroxisome proliferator activated receptor γ co-activator 1*) est également stimulée par ces traitements, alors que celle de gènes ne

portant pas d'éléments de réponse à FoxO1 ne varie pas (résultats non publiés).

Hyperglycémie chronique et O-glycosylation de FoxO1 : conséquences chez le patient diabétique

Nous avons donc mis en évidence un nouveau mode de régulation post-traductionnel de l'activité de FoxO1, dépendant de la disponibilité en glucose dans la cellule. Cette observation pourrait être importante vis-à-vis du phénomène de glucotoxicité observé chez les patients obèses ou diabétiques. Chez ces patients, l'hyperglycémie *per se* a des effets délétères sur les cellules pancréatiques et sur les tissus cibles de l'insuline, ce qui conduit à une aggravation de l'intolérance au glucose. Une production excessive de glucose par néoglucogénèse dans le foie est une des causes majeures de l'hyperglycémie de ces patients [5, 6]. L'hydrolyse du glucose-6-phosphate en glucose par la G6Pase constitue l'étape finale et obligatoire pour la libération du glucose dans la circulation. Dans la mesure où la O-glycosylation de FoxO1 stimule son activité transcriptionnelle vis-à-vis du gène de la G6Pase, il est possible que l'hyperglycémie chronique induise une O-glycosylation anormale de FoxO1, conduisant à une surexpression de la G6Pase, une production accrue de glucose et donc une aggravation de l'hyperglycémie. Un cercle vicieux s'établirait, dans lequel le glucose entreprendrait l'hyperglycémie chronique en induisant la O-glycosylation de FoxO1 (Figure 2). Il faut en outre rappeler que l'hyperglycémie chronique a également des effets délétères au niveau pancréatique, en diminuant la survie et en augmentant l'apoptose des cellules β du pancréas. Dans la mesure où FoxO1 joue un rôle central dans les mécanismes de mort cellulaire [7], en particulier dans la cellule β-pancréatique [8], une augmentation de son activité transcriptionnelle par O-glycosylation pourrait aussi expliquer certains effets toxiques du glucose sur la fonction pancréatique (Figure 2).

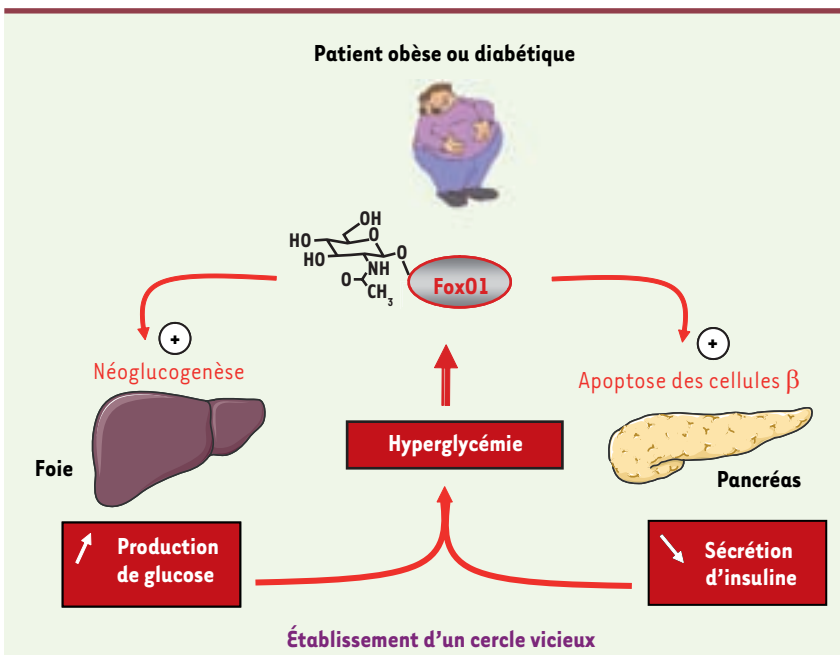


Figure 2. Implication potentielle de FoxO1 dans le phénomène de glucotoxicité.



Conclusion et perspectives

Au-delà de son rôle dans la régulation du métabolisme énergétique et dans le phénomène de glucotoxicité, la O-glycosylation de FoxO1 pourrait aussi être importante dans des processus pathologiques impliquant la prolifération et la survie cellulaires. FoxO1, considéré comme un facteur anti-prolifératif et pro-apoptotique, pourrait en particulier constituer une cible thérapeutique intéressante pour le traitement du cancer. En effet, dans la mesure où les cellules cancéreuses sont connues pour être de très grosses consommatrices de glucose, des manipulations pharmacologiques visant à réorienter une partie de ce glucose vers la voie de biosynthèse

des hexosamines pourrait constituer des pistes de recherche intéressantes pour tenter d'inhiber la croissance tumorale par le biais d'une O-glycosylation accrue de FoxO1. ♦

A new mode of regulation of FoxO1 by O-GlcNAc glycosylation: involvement in the glucotoxicity phenomenon

RÉFÉRENCES

- Comer FI, Hart GW. O-Glycosylation of nuclear and cytosolic proteins. Dynamic interplay between O-GlcNAc and O-phosphate. *J Biol Chem* 2000; 275 : 29179-82.
- Hanover JA. Glycan-dependent signaling: O-linked N-acetylglucosamine. *Faseb J* 2001; 15 : 1865-76.
- Brunet A. Les multiples actions des facteurs de transcription FOXO. *Med Sci (Paris)* 2004; 20 : 856-9.
- Kuo M, Zilberfarb V, Gangneux N, Christeff N, Issad T. O-glycosylation of FoxO1 increases its transcriptional activity towards the glucose 6-phosphatase gene. *FEBS Lett* 2008; 582 : 829-34.
- Bell PM, Firth RG, Rizza RA. Assessment of insulin action in insulin-dependent diabetes mellitus using [6(14)C]glucose, [3(3)H]glucose, and [2(3)H]glucose. Differences in the apparent pattern of insulin resistance depending on the isotope used. *J Clin Invest* 1986; 78 : 1479-86.
- DeFronzo RA. Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988; 37 : 667-87.
- Huang H, Tindall DJ. Dynamic FoxO transcription factors. *J Cell Sci* 2007; 120 : 2479-87.
- Glauser DA, Schlegel W. The emerging role of FOXO transcription factors in pancreatic beta cells. *J Endocrinol* 2007; 193 : 195-207.

Conférences-débats

L'embryon, le fœtus, l'enfant

Assistance Médicale à la Procréation (AMP) et lois de bioéthique

L'embryon, le fœtus et l'enfant sont au cœur des lois de bioéthique, encadrant l'Assistance médicale à la Procréation, dont la révision est prévue en 2009.

L'Institut du droit de la famille et du patrimoine et l'Académie nationale de médecine se sont naturellement associés pour apporter dès à présent au débat leurs expériences respectives et leur réflexion.

Ces questions, outre qu'elles doivent faire l'objet d'échanges transdisciplinaires, ne peuvent plus rester l'apanage des seuls spécialistes. C'est pourquoi les participants aux conférences-débats seront largement associés à l'ensemble des discussions. Il s'agit de dépasser les frontières de la médecine et du droit pour permettre justement aux médecins et aux juristes de confronter leurs points de vue à la lumière de la philosophie, des sciences humaines et du débat public.

Ce cycle de conférences est organisé au cours de trois demi-journées, avec des interventions croisées de juristes, de médecins et de représentants des sciences humaines qui font référence sur ces sujets.

L'ensemble des interventions fera l'objet d'une publication par les éditions ESKA.

Maison du barreau

2-4 rue de Harlay, 75001 Paris

Jeudi 17 avril 2008 - Le fœtus dans tous ses états : quel statut ?

LE FŒTUS : UN PATIENT ? avec Claude SUREAU, Agnès LOUIS-PECHA, Anne FAGOT-LARGEAULT

LA MATERNITÉ DE SUBSTITUTION avec Paul DEVROEY, Béatrice WEISS-GOUT, Dominique MEHL

Vendredi 16 mai 2008 - L'enfant issu d'une AMP : quelle filiation ?

NOUVEAUX MODES DE PROCRÉATION ET ÉTABLISSEMENT D'UN LIEN DE FILIATION avec Bernard GOLSE,

Brigitte FEUILLET-LE MINTIER, Carine CAMBY

PROCRÉATION MÉDICALISÉE : Intervention de l'État et/ou dynamique de marché ? Bilan et perspectives

Synthèse de l'ensemble du cycle par Hervé CHNEIWEISS, Pierre MURAT et Alex MAURON

Clôture des travaux : Madame Valérie PECRESSE, Ministre de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur

INFORMATIONS ET INSCRIPTION : CFEÉ – Serge KEBABTCHIEFF – 12 rue du Quatre Septembre – 75002 Paris,

Tél : 01 42 86 55 69/87 Fax : 01 42 60 45 35 – congres@eska.fr