



Le facteur d'échange Arhgef1 : une nouvelle cible dans l'hypertension artérielle

Gervaise Loirand, Pierre Pacaud

UMR-S915, IRT-UN, Institut du thorax,
8 quai Moncoussu, 44007 Nantes, France.
pierre.pacaud@univ-nantes.fr
gervaise.loirand@univ-nantes.fr

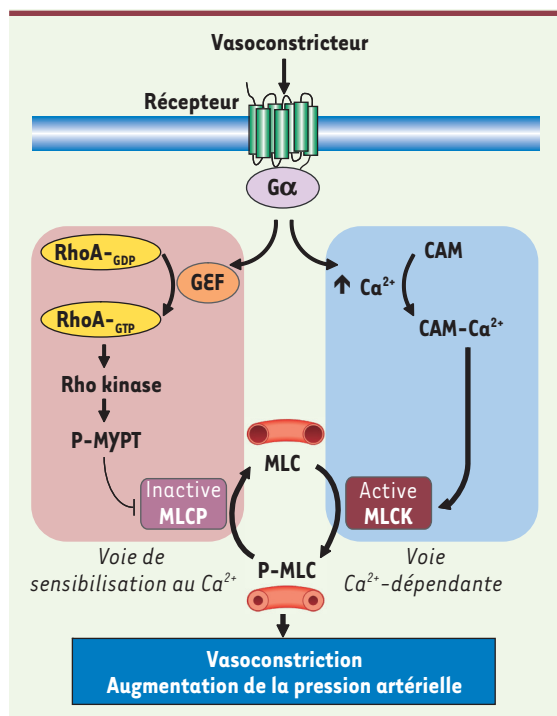
> Les maladies cardiovasculaires, avec en tête l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque et les accidents vasculaires cérébraux, représentent en France, comme dans bien d'autres pays développés, les principales causes de mortalité. L'hypertension artérielle (HTA) en est le facteur de risque le plus important et le plus fréquent : elle atteint 31 % de la population française adulte. Malgré des avancées thérapeutiques importantes au cours des dix dernières années, l'HTA reste aujourd'hui insuffisamment détectée, traitée et contrôlée, et les mécanismes moléculaires impliqués dans sa pathogénèse mal connus.

Tonus vasculaire et contractilité artérielle contrôlent la pression artérielle

Une des caractéristiques communes à la plupart des hypertensions est une augmentation des résistances artérielles périphériques. La contraction des cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire (CMLV) régule le diamètre artériel et le tonus vasculaire et se présente ainsi comme un déterminant majeur des résistances périphériques. L'état contractile des CMLV reflète à chaque instant l'équilibre entre l'activité des facteurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs qui contrôlent le niveau de phosphorylation des chaînes

de la pression artérielle. La phosphorylation et la déphosphorylation de la MLC20 sont catalysées respectivement par deux enzymes, la kinase MLCK (*myosin light chain kinase*) et la phosphatase MLCP (*myosin light chain phosphatase*).

Bien que l'implication du Ca^{2+} , via la stimulation de l'activité de la MLCK, soit connue depuis longtemps, la découverte du rôle essentiel de la protéine G monomérique RhoA dans le mécanisme de sensibilisation au Ca^{2+} induite par les vasoconstricteurs a constitué un progrès majeur dans la compréhension des mécanismes moléculaires de la contraction des CMLV [2, 3]. RhoA appartient à la famille des protéines Rho, elle-même membre de la super-famille Ras. C'est un commutateur moléculaire qui alterne entre un état inactif lié au GDP et un état actif lié au GTP. Sous l'action d'un stimulus, un facteur d'échange GEF (*guanine nucleotide exchange factor*) catalyse la substitution du GDP par le GTP qui active RhoA et lui permet d'activer à son tour ses effecteurs. De nombreux vasoconstricteurs agissant via



légères régulatrices de la myosine de type II (MLC20) [1]. Une phosphorylation accrue de la MLC20 produit une vasoconstriction et une augmentation de la pression artérielle. À l'opposé, une diminution de la phosphorylation de la MLC20 induit une vasodilatation et une baisse

Figure 1. Signalisation de la contraction dans les CMLV. L'augmentation de la phosphorylation des chaînes légères de myosine (P-MLC) induit le développement de la contraction. La stimulation d'un récepteur à sept domaines transmembranaires par un vasoconstricteur produit, via les sous-unités α des protéines G trimériques ($G\alpha$) auxquelles ils sont couplés, (1) la stimulation de la kinase des MLC (MLCK) consécutive à l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire et à sa liaison à la calmoduline (CAM), et (2) l'inhibition de la phosphatase des MLC (MLCP) via la phosphorylation de la MYPT par Rho kinase. GEF : facteurs d'échange de RhoA.

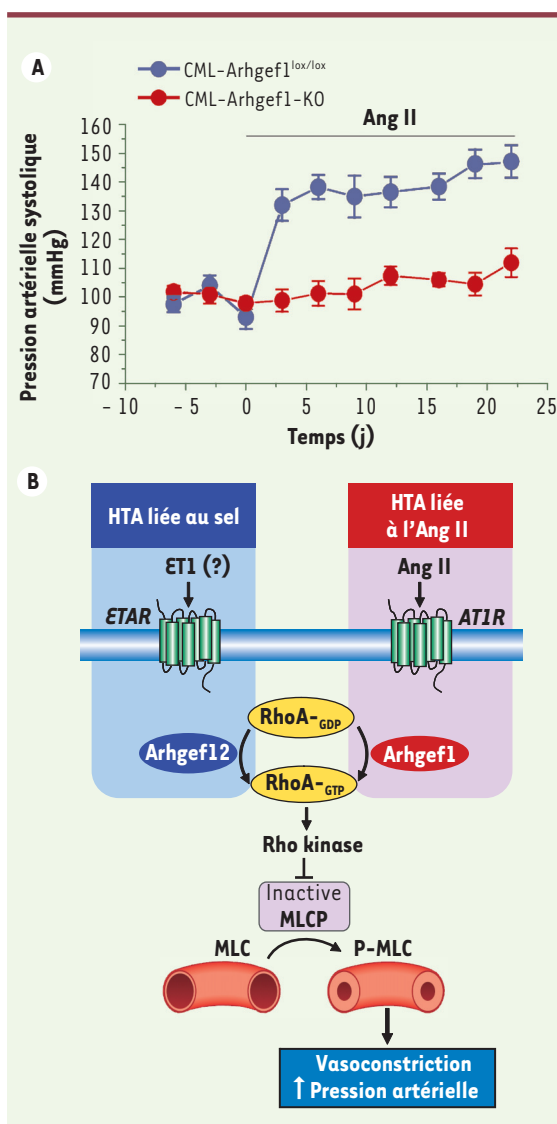


Figure 2. Rôle essentiel de Arhgef1 dans l'HTA dépendante de l'Ang II. **A.** Effet de l'infusion d'Ang II sur la pression artérielle systolique de souris contrôles (CML-Arhgef1^{lox/lox}) et de souris n'exprimant pas Arhgef1 dans les CML (CML-Arhgef1-KO). **B.** Représentation schématique du rôle respectif de Arhgef12 et Arhgef1 dans l'HTA induite par un excès de sel et l'Ang II (ETAR : récepteur A de l'endothéline ; AT1R : récepteur de l'Ang II de type 1).

L'activation de la protéine G monomérique RhoA dans la paroi artérielle : une cause commune d'HTA

Une activation excessive de RhoA est retrouvée dans les modèles expérimentaux de type 1 (AT1) exprimés sur les CMLV. L'activation du système SRAA ainsi que des taux élevés d'Ang II induisent une HTA. Nous avons donc voulu identifier le(s) GEF responsable(s) de l'activation de RhoA par l'Ang II dans les CMLV. Notre première stratégie a consisté à inhiber un à un par des ARN interférents tous les GEF de RhoA exprimés dans les CMLV. Seule l'inhibition de l'expression du GEF Arhgef1 empêchait l'activation de RhoA par l'Ang II dans les CMLV, sans modifier son activation par d'autres vasoconstricteurs comme l'endothéline-1, la phényléphrine ou le thromboxane-A2 [8]. De plus, l'inhibition de l'expression d'Arhgef1 dans des anneaux d'artères abolit la contraction induite *ex vivo* par l'Ang II sans affecter la contraction produite par d'autres vasoconstricteurs [8]. Ces données suggèrent donc qu'Arhgef1 est le GEF qui couple spécifiquement les récepteurs AT1 de l'Ang II à l'activation de RhoA, et que cette voie de signalisation joue un rôle essentiel dans la contraction artérielle produite par l'Ang II.

L'Ang II est le principal effecteur du système hormonal rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) qui joue un rôle clé dans la régulation de la pression artérielle. Parmi ses nombreux effets, l'Ang II est un puissant vasoconstricteur qui contrôle directement le tonus vasculaire par l'activation des récepteurs de type 1 (AT1) exprimés sur les CMLV. L'activation du système SRAA ainsi que des taux élevés d'Ang II induisent une HTA. Nous avons donc voulu identifier le(s) GEF responsable(s) de l'activation de RhoA par l'Ang II dans les CMLV. Notre première stratégie a consisté à inhiber un à un par des ARN interférents tous les GEF de RhoA exprimés dans les CMLV. Seule l'inhibition de l'expression du GEF Arhgef1 empêchait l'activation de RhoA par l'Ang II dans les CMLV, sans modifier son activation par d'autres vasoconstricteurs comme l'endothéline-1, la phényléphrine ou le thromboxane-A2 [8]. De plus, l'inhibition de l'expression d'Arhgef1 dans des anneaux d'artères abolit la contraction induite *ex vivo* par l'Ang II sans affecter la contraction produite par d'autres vasoconstricteurs [8]. Ces données suggèrent donc qu'Arhgef1 est le GEF qui couple spécifiquement les récepteurs AT1 de l'Ang II à l'activation de RhoA, et que cette voie de signalisation joue un rôle essentiel dans la contraction artérielle produite par l'Ang II.

Pour valider ces résultats *in vivo*, nous avons développé un modèle de souris transgénique n'exprimant pas la protéine Arhgef1 spécifiquement dans les CML. L'infusion continue d'Ang II à ces souris ne modifie pas leur pression artérielle alors qu'elle provoque une HTA chez les souris contrôles (Figure 2A) [8]. En revanche, le contrôle de la pression

des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G trimériques activent RhoA selon cette cascade de réactions ; c'est le cas de l'angiotensine II (Ang II), l'endothéline 1, la noradrénaline et le thromboxane A2. La sérine-thréonine kinase Rho kinase est l'effecteur de RhoA responsable de la sensibilisation au Ca²⁺ lors de la contraction des CMLV [4]. Rho-kinase phosphoryle la sous-unité régulatrice MYPT (*myosin phosphatase target subunit*) de la MLCP et inhibe ainsi son activité (Figure 1). Ce mécanisme est indispensable à l'effet contractant des vasoconstricteurs cités précédemment.

environ 60 GEF des protéines Rho ont été identifiées dans les génomes de mammifères, et 25 à 30 d'entre eux sont capables d'activer RhoA [7]. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'hyperactivation de RhoA est un processus commun à la pathogenèse de différentes formes d'HTA, mais que les GEF responsables de cette hyperactivité pourraient être différents selon les formes d'HTA et spécifiques.

Le GEF de RhoA Arhgef1 est responsable de l'activation de RhoA par l'Ang II

Nous avons récemment examiné cette hypothèse en nous intéressant à l'hypertension dépendante de l'Ang II.



artérielle par d'autres médiateurs reste normal chez les souris n'exprimant pas Arhgef1 dans les CML. Ainsi, l'absence d'Arhgef1 dans les CML protège de l'HTA induite par l'Ang II mais n'altère pas les autres mécanismes de régulation de la pression artérielle. Par des méthodologies similaires, l'équipe de Offermanns a montré que les souris n'exprimant pas Arhgef12, un autre GEF de RhoA, sont résistantes à l'HTA induite par un régime riche en sel [9]. Ces travaux confirment ainsi notre hypothèse : les GEF responsables de l'hyperactivité de RhoA et de l'augmentation de la vasoconstriction varient selon l'origine de l'HTA : Arhgef1 est impliquée dans l'HTA liée à l'Ang II et Arhgef12 dans celle provoquée par un excès de sel (Figure 2B).

Conclusion

Les résultats exposés ci-dessus apportent des éléments nouveaux dans la compréhension des mécanismes moléculaires de la régulation du tonus et de la pression artériels. La position stratégique des GEF de RhoA les identifie aujourd'hui comme des cibles thérapeutiques potentielles pour inhiber sélectivement l'hyperactivité de RhoA associée à différentes formes d'HTA. Arhgef1 pourrait être une cible thérapeutique dans les HTA dépendantes de l'Ang II

alors que des inhibiteurs d'Arhgef12 pourraient être utilisés dans les HTA liées à un excès de sel. Les inhibiteurs ciblant les GEF de RhoA spécifiquement responsables de l'hyperactivité de RhoA ont l'avantage de laisser la protéine RhoA disponible. Elle peut donc être recrutée par d'autres récepteurs et d'autres voies de signalisation auxquelles ces GEF ne participent pas, préservant ainsi le contrôle physiologique de la pression artérielle par les médiateurs vasoactifs. L'avantage thérapeutique d'un inhibiteur d'Arhgef1 par rapport aux inhibiteurs des récepteurs AT1 de l'Ang II déjà largement utilisés dans le traitement de l'HTA devra cependant être démontré. Une piste à explorer est le rôle potentiel d'Arhgef1 dans les effets synergiques de l'Ang II et de l'aldostérone sur l'activité de RhoA [10]. Si Arhgef1 est impliqué dans cette synergie, les inhibiteurs d'Arhgef1 auraient alors un intérêt supplémentaire certain. ♦

The exchange factor Arhgef1: a new target in hypertension

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié du soutien de l'Agence nationale de la recherche (ANR-05-PCOD-015-01 et ANR-08-GENO-040-01), et de la Fondation pour la recherche médicale (DEQ20051205767 et DEQ20090515416).

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J Physiol* 2000 ; 522 : 177-85.
2. Gong MC, Iizuka K, Nixon G, et al. Role of guanine nucleotide-binding proteins--ras-family or trimeric proteins or both--in Ca²⁺ sensitization of smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 1340-5.
3. Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, et al. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature* 1997 ; 389 : 990-4.
4. Loirand G, Guerin P, Pacaud P. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Circ Res* 2006 ; 98 : 322-34.
5. Seko T, Ito M, Kureishi Y, et al. Activation of RhoA and inhibition of myosin phosphatase as important components in hypertension in vascular smooth muscle. *Circ Res* 2003 ; 92 : 411-8.
6. Masumoto A, Hirooka Y, Shimokawa H, et al. Possible involvement of Rho-kinase in the pathogenesis of hypertension in humans. *Hypertension* 2001 ; 38 : 1307-10.
7. Rossman KL, Der CJ, Sondel J. GEF means go: turning on RHO GTPases with guanine nucleotide-exchange factors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005 ; 6 : 167-80.
8. Guilluy C, Bregeon J, Toumaniantz G, et al. The Rho exchange factor Arhgef1 mediates the effects of angiotensin II on vascular tone and blood pressure. *Nat Med* 2010 ; 16 : 183-90.
9. Wirth A, Benyo Z, Lukasova M, et al. G12-G13-LARG-mediated signaling in vascular smooth muscle is required for salt-induced hypertension. *Nat Med* 2008 ; 14 : 64-8.
10. Montezano AC, Callera GE, Yogi A, et al. Aldosterone and angiotensin II synergistically stimulate migration in vascular smooth muscle cells through c-Src-regulated redox-sensitive RhoA pathways. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008 ; 28 : 1511-8.