Biologie Aujourd'hui, 208 (1), 45-53 (2014)
© Société de Biologie, 2014
DOI: 10.1051/jbio/2014009

Actions classiques de la vitamine D : apport de la génétique humaine et de modèles de souris génétiquement modifiées

Frédéric Jehan[1,2] et Alexandru Voloc[3]

[1] INSERM U1132, Hôpital Lariboisière, 75010 Paris, France
[2] Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, 75013 Paris, France
[3] Université de Médecine et de Pharmacie "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldavie

Auteur correspondant : Frédéric Jehan, frederic.jehan@inserm.fr

Reçu le 22 avril 2014

Résumé – Au début du 20e siècle, la découverte de la vitamine D a permis de mieux comprendre son action, et de guérir une maladie prépondérante à cette époque, le rachitisme. Le rôle principal de la vitamine D, à travers sa forme active la 1,25-dihydroxyvitamine D_3, est le maintien de l'homéostasie phosphocalcique afin de permettre les grandes fonctions physiologiques liées au calcium et au phosphore. Les progrès de la recherche de ces 40 dernières années ont permis de découvrir les différentes étapes du métabolisme de la vitamine D et les aspects moléculaires de son action, de son récepteur nucléaire aux gènes cibles de l'hormone. Dans cette revue seront présentées les avancées majeures sur le métabolisme et la physiologie de la vitamine D apportées par les progrès de la génétique humaine et la découverte de mutations responsables de défauts directement liés au métabolisme et à l'action de la vitamine D. Seront également présentés ici les apports de la génétique de la souris (invalidation totale ou partielle de gènes, expressions ciblées) qui ont permis de détailler le rôle de la vitamine D au niveau tissulaire (os, intestin, glandes parathyroïdes...) et/ou cellulaire (ostéoblastes, ostéocytes, entérocytes...).

Mots clés : Vitamine D / récepteur de la vitamine D / homéostasie phosphocalcique / maladies génétiques / souris génétiquement modifiés

Abstract – Classical actions of vitamin D: insights from human genetics and from mouse models on calcium and phosphate homeostasis.

At the beginning of the 20th century, the discovery of vitamin D by Sir EV McCollum allowed a better comprehension of its origin and its role, and made it possible to cure rickets, a largely prevalent disease at that time. The main role of vitamin D_3 is to maintain calcium and phosphate homeostasis through the action of 1,25-dihydroxyvitamin D_3, its active form. This underlies physiological functions related to calcium and phosphate, such as bone mineralization or muscle function. Progress in basic research for the last 40 years led to the discovery of the main hydroxylation steps that produce and catabolize the active form of vitamin D. It also uncovered the molecular aspects of vitamin D action, from its nuclear receptor, VDR, to the various target genes of this hormone. Recent progress in human genetics pointed out mutations in genes involved in vitamin D metabolism and 1,25-dihydroxyvitamin D_3 actions. It also helped to understand the role of the major actors that control vitamin D production and effects, through 1,25-dihydroxyvitamin D_3 actions on phosphate and calcium homeostasis, and on bone biology. Genetical engineering targeting the whole animal or defined tissues or cell types have yielded many mouse models in the past decades. When targeted to tissues important for vitamin D metabolism and activity, these models allowed a more detailed comprehension of vitamin effects on calcium and phosphorus homeostasis.

Key words: Vitamin D / vitamin D receptor / calcium and phosphorus homeostasis / genetic diseases / genetically engineered mice

Histoire de la vitamine D

La découverte de la vitamine D date du début du 20e siècle alors que le nombre d'enfants rachitiques s'était accru du fait de l'industrialisation, de la pollution des villes, de la migration des campagnes vers les villes et des conséquences sur la qualité de la nutrition et le manque d'exposition au soleil.

En 1919, Sir Edward Mellanby a montré le développement de rachitisme chez des chiens nourris de farine d'avoine et gardés à l'abri de la lumière (Mellanby, 1919). En guérissant ce rachitisme par de l'huile de foie de morue, il a supposé que cet effet était peut-être dû à la vitamine A nouvellement découverte dans ce produit par Elmer McCollum (McCollum *et al.*, 1916). De son côté, Kurt Huldshinsky a montré que le rachitisme chez les enfants pouvait être soigné par exposition aux ultraviolets (Huldshinsky, 1919).

En 1922, Elmer McCollum découvre une nouvelle vitamine dans l'huile de foie de morue qu'il appelle vitamine D (les vitamines A, B et C venant d'être récemment découvertes) et qu'il rend responsable de la minéralisation osseuse et de la guérison du rachitisme (McCollum *et al.*, 1922). Steenbock & Black (1924), Hess & Weinstock (1925) et Steenbock *et al.* (1925) montrent à leur tour qu'une substance inerte présente dans certaines nourritures et au niveau de la peau peut être transformée par irradiation UV en un composé capable de traiter le rachitisme. C'est en 1931−1932 que Windaus *et al.* (1932) ainsi que Angus *et al.* (1931) ont identifié la structure de la vitamine D_2 d'origine végétale, et en 1936 que la vitamine D_3 d'origine animale a été chimiquement caractérisée par Windaus *et al.* Il a fallu néanmoins attendre les années 1960 pour que le groupe de DeLuca montre que deux étapes de transformation, dans le foie puis dans le rein, étaient nécessaires pour produire la forme active de la vitamine D_3 (Lund & DeLuca, 1966 ; Morii *et al.*, 1967 ; Deluca, 2014).

Origine et métabolisme de la vitamine D (Figure 1)

Physiologiquement, la vitamine D est synthétisée majoritairement au niveau de la peau lors de l'irradiation par les ultraviolets du soleil mais c'est la forme hormonale, la 1,25-dihydroxyvitamine D_3, qui va agir sur l'expression des gènes dans les tissus cibles en se liant à un récepteur nucléaire (Haussler & Norman, 1969), le VDR (pour « *Vitamin D Receptor* »), facteur de transcription et membre de la superfamille des récepteurs aux hormones stéroïdes (pour revue Jones *et al.*, 1998 ; Haussler *et al.*, 2013).

Au niveau de la peau, les ultraviolets transforment le 7-déhydrocholestérol des cellules des couches profondes de l'épiderme en prévitamine D_3. Ce composé s'isomérise spontanément en vitamine D_3 (Velluz & Amiard, 1949). Par la suite, trois principales étapes enzymatiques impliquant des hydroxylations par des enzymes de type cytochrome P450 vont contrôler le devenir de la vitamine D_3 (pour revue, Jones *et al.*, 2014). Celle-ci est transportée de la peau vers le sang et rapidement hydroxylée dans le foie en sa forme de réserve, la 25-hydroxyvitamine D_3 (25-OH D_3 ; Ponchon & Deluca, 1969). Une nouvelle hydroxylation est nécessaire pour produire la forme active de la vitamine D, la 1,25-dihydroxyvitamine D_3 (1,25-$(OH)_2$ D_3). Elle a lieu très majoritairement dans les tubes contournés distaux des reins (Fraser & Kodicek, 1970 ; Holick *et al.*, 1971 ; Lawson *et al.*, 1971 ; Norman *et al.*, 1971). La dégradation de la 25-OH D_3 et de la 1,25-$(OH)_2$ D_3 est initiée par une hydroxylation en position 24 de la molécule, effectuée par une enzyme présente dans tous les tissus cibles de la vitamine D et dont l'expression est contrôlée par le VDR et la 1,25-$(OH)_2$ D_3 elle-même.

La synthèse de vitamine D par irradiation ultraviolette du soleil implique que sa production par la peau n'est naturellement possible qu'une partie de l'année sous une latitude tempérée (avril à septembre sous une latitude de 45° nord). Dans ce cas, un soleil assez haut dans le ciel et une exposition quotidienne de la peau de 10 à 20 min par jour sur les bras et le visage permettent un apport substantiel, voire suffisant, de vitamine D. En conséquence, le niveau de 25-OH D_3 dans le sang, forme de réserve de vitamine D, fluctue au cours de l'année chez l'Homme en fonction de la latitude et de la saison. Sous des latitudes tempérées, les réserves de 25-OH D_3 sont à leur minimum vers février−mars et au maximum à la fin de l'été (pour exemple, Hyppönen & Power, 2007). L'apport alimentaire naturel de vitamine D est possible par la consommation de poissons gras (truite, saumon, hareng, sardine, maquereau *etc.*) ou de certains champignons (girolle), ou enfin de certains aliments supplémentés en vitamine D (lait, petits suisses, *etc.*). Mais la vitamine D existe également sous forme de formulations médicales et paramédicales.

La vitamine D et son action sur le métabolisme phosphocalcique

Le rôle principal de la 1,25-$(OH)_2$ D_3 est de maintenir les niveaux de calcium dans le sang. La 1,25-$(OH)_2$ D_3 le fait en permettant une absorption efficace du calcium provenant de l'alimentation au niveau de l'intestin. Elle augmente également la réabsorption du calcium au niveau du rein afin de diminuer les pertes urinaires (calciurie). Enfin, en conjonction avec

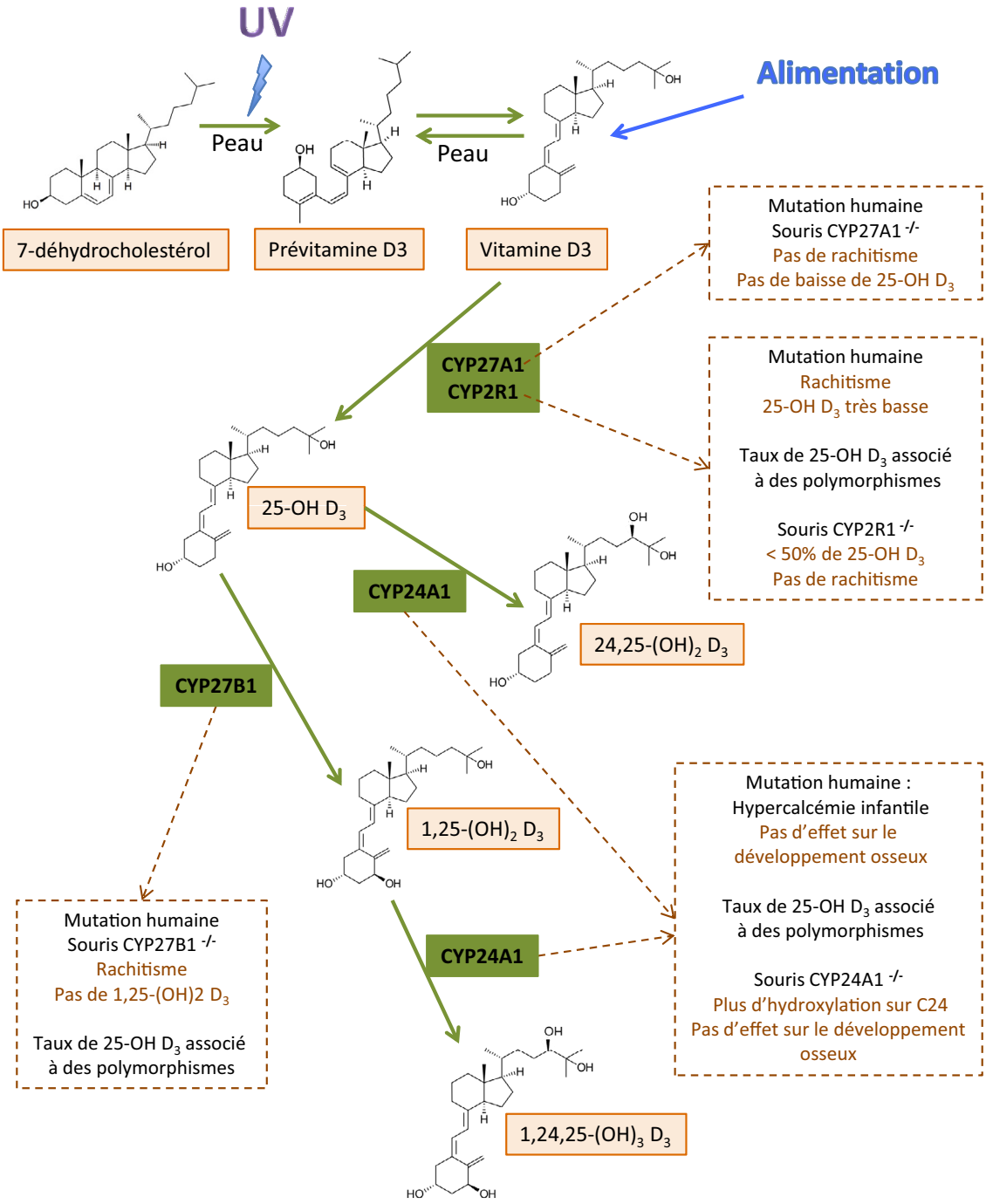

Fig. 1. Apport de la génétique humaine et de modèles de souris génétiquement modifiées à la compréhension du métabolisme de la vitamine D. Les différentes enzymes impliquées dans le métabolisme de la vitamine D et leur réaction sont indiquées en vert sombre respectivement. Les noms des métabolites de la vitamine D sont indiqués sur fond orange clair. Les flèches et les textes encadrés en pointillés marron présentent un résumé des apports de la génétique sur les connaissances du métabolisme de la vitamine D.

l'hormone parathyroïdienne, elle mobilise le calcium de l'os lorsque les taux de calcium circulant sont bas. Tous ces effets maintiennent le niveau de calcium sanguin dans une fourchette permettant une fonction neuromusculaire et une minéralisation de l'os normales (pour revue Jones *et al.*, 1998).

La 1,25-$(OH)_2$ D_3 agit également sur le métabolisme du phosphate en induisant l'expression du FGF23, une hormone augmentant la phosphaturie par diminution de la réabsorption du phosphate par le rein. En retour, le FGF23 peut diminuer l'expression rénale de la CYP27B1, l'enzyme responsable de la production de la forme active de la vitamine D, ce qui entraîne une diminution de la formation de la 1,25-$(OH)_2$ D_3 à partir de la 25-OH D_3 (Quarles, 2012 ; Fukumoto, 2014).

Classiquement, la 1,25-$(OH)_2$ D_3 liée au VDR forme alors un hétérodimère avec le RXR, un autre récepteur de la même famille. Le complexe ainsi formé se lie à des séquences spécifiques cis d'ADN appelées VDRE (pour « *Vitamin D response element* ») que l'on retrouve au niveau de gènes dont l'expression est régulée par la vitamine D. Ces VDRE sont classiquement trouvés dans la partie proximale des régions régulatrices des gènes cibles. De plus, la localisation des VDRE est très variable, parfois au sein des gènes, parfois en amont ou en aval et souvent à des dizaines de milliers de paires de bases du gène cible (Pike, 2011). Des recherches fonctionnelles effectuées sur le génome entier ont montré la présence de nombreux VDRE (de quelques centaines à 10 000 selon le type cellulaire étudié ; pour revue Pike & Meyer, 2013).

Apports de la génétique humaine et des modèles de souris génétiquement modifiées à la compréhension du métabolisme de la vitamine D (Figure 1)

Les principales étapes réactionnelles de la biosynthèse et de la dégradation de la vitamine D sont connues depuis la fin des années 1960 et le début des années 1970. Elles sont toutes effectuées par des enzymes d'hydroxylation de type cytochrome P450. Les premiers gènes synthétisant les enzymes impliquées dans ce métabolisme n'ont été découverts que dans les années 90.

Le rôle de ces enzymes a été mis en évidence par l'existence de mutations humaines et/ou montré grâce au développement de modèles de souris transgéniques. Ces travaux ont montré que toutes les enzymes impliquées dans le métabolisme de la vitamine D ne sont pas encore connues. C'est le cas par exemple d'une enzyme responsable de la 25-hydroxylation de la vitamine D (pour revue Jones *et al.*, 2014).

Les enzymes responsables de la synthèse de la 25-hydroxyvitamine D_3

La production de la forme de réserve de la vitamine D s'effectue dans le foie. La recherche de l'enzyme (ou des enzymes) responsable de cette étape clé du métabolisme de la vitamine D a fait l'objet de nombreuses recherches longtemps infructueuses et souvent controversées. Une des principales raisons est l'absence de pathologie associée chez l'Homme, et donc de cible génétique évidente. Plusieurs enzymes ont été trouvées (pour revue : Zhu & DeLuca, 2012 ; Jones *et al.*, 2014), la première étant la CYP27A1, une enzyme mitochondriale clonée en 1990 et ayant principalement une activité de 27-hydroxylation du stérol. Si cette enzyme possède effectivement une activité 25-hydroxylasique de la vitamine D *in vitro*, les animaux invalidés pour la CYP27A1 ont paradoxalement une augmentation du niveau sanguin de 25-hydroxyvitamine D_3. Plusieurs mutations invalidant le gène ont été découvertes chez l'Homme ; elles entraînent une baisse peu importante du niveau de 25-OH D_3. Ces différents faits suggèrent l'existence d'autres enzymes impliquées dans la production de 25-hydroxyvitamine D_3. Une de ces enzymes, la CYP2R1, a été identifiée en 2003. Elle est capable de transformer la vitamine D2 et la vitamine D_3 en 25-hydroxyvitamine D de façon similaire, et à des concentrations très faibles, ce qui n'est pas le cas de la CYP27A1. Le gène de la CYP2R1 a été invalidé chez la souris et, curieusement, ces animaux invalidés pour l'enzyme ont une baisse de seulement 50% de la 25-hydroxyvitamine D dans le sang et une concentration de 1,25-$(OH)_2$ D_3 normale (Zhu *et al.*, 2013). La conclusion qui s'impose est qu'au moins une autre enzyme est responsable de la production de 25-OH D_3. Ce n'est probablement pas la CYP27A1 puisque la double invalidation CYP2R1/CYP27A1 ne modifie pas les niveaux de 25-OH D_3 circulants de façon identique à l'invalidation de la CYP2R1 seule, renforçant la constatation que la CYP27A1 joue un rôle mineur dans le métabolisme de la vitamine D. Le rôle de la CYP2R1 est peut-être plus important chez l'Homme que chez la souris, puisqu'une mutation humaine invalidant l'activité de cette enzyme conduit à des niveaux très bas de 25-hydroxyvitamine D, associés à un rachitisme (Casella *et al.*, 1994 ; Cheng *et al.*, 2004 ; pour revue Jones, 2014). Par ailleurs, des polymorphismes dans le gène CYP2R1 ont été associés avec les niveaux de 25-hydroxyvitamine D sanguins dans trois études sur génome entier (Anh *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2010 ; Lasky-Su *et al.*, 2012), renforçant l'idée d'un rôle important de cette enzyme dans la production

de 25-OH D_3. De nombreuses autres enzymes P450 ont été étudiées, à la recherche de candidats à l'hydroxylation de la vitamine D (CYP2J3, CYP3A4, CYP2D25, CYP2C11...). Seul CYP2J2/3 est un candidat sérieux dans cette liste, car il est exprimé dans le foie et son expression n'est pas soumise à un dimorphisme sexuel (Zhu & DeLuca, 2012 ; Jones *et al.*, 2014).

La 25-hydroxyvitamine D 1-hydroxylase.

Elle transforme la 25-OH D_3 en 1,25-$(OH)_2D_3$, la forme hormonale de la vitamine D, et est codée par le gène CYP27B1. L'existence d'une mutation chez l'Homme est connue depuis 1973 mais le gène n'a été cloné qu'en 1997 (pour revue Jones *et al.*, 2014). Le lien avec le rachitisme vitamino-résistant de type I n'a été fait que l'année suivante. L'invalidation de ce gène chez la souris par deux groupes différents a définitivement montré l'absence de production de 1,25-$(OH)_2$ D_3 en l'absence de ce gène et a confirmé que l'enzyme CYP27B1 était l'unique responsable de cette activité. Par ailleurs, plusieurs études ont montré des associations entre le niveau de 25-OH D_3 chez l'Homme, le substrat de cette enzyme, et des polymorphismes situés dans la région régulatrice du gène de la CYP27B1 (pour exemple, Signorello *et al.*, 2011).

La 25-hydroxyvitamine D-24-hydroxylase

Cette enzyme est responsable de la dégradation de la 1,25-$(OH)_2D_3$, en catalysant une série de 5 hydroxylations commençant en position 24 de la molécule et qui aboutissent finalement à la production d'acide calcitroïque éliminé dans la bile (pour revue, Jones *et al.*, 2012). Le gène CYP24A1, cloné en 1991, a été invalidé chez la souris. Les animaux invalidés pour la CYP24A1 conservent des niveaux de 1,25-$(OH)_2$ D_3 comparables à ceux des souris sauvages (Masuda *et al.*, 2005). Cependant, une autre voie de dégradation de la 1,25-$(OH)_2$ D_3 en produits hydrosolubles et impliquant le foie persiste chez les animaux invalidés pour la CYP24A1 et démontre l'existence d'autres voies de catabolisme de la forme active de la vitamine D. Récemment, des mutations invalidantes de la CYP24A1 ont été découvertes chez des patients atteints d'hypercalcémie (Schlingmann *et al.*, 2011 ; pour revue, Jones, 2014) qui ont permis de confirmer le rôle important joué par cette enzyme dans la dégradation de la 1,25-$(OH)_2$ D_3 et le maintien du métabolisme phosphocalcique chez l'Homme. De plus, des études récentes sur génome entier ont montré des associations entre plusieurs polymorphismes du gène CYP24A1 et le niveau sanguin de 25-OH D_3 (Wang *et al.*, 2010).

La CYP24A1 hydroxyle également la 25-OH D_3 pour former la 24,25-dihydroxyvitamine D_3 (24,25-$(OH)_2$ D_3). Ce composé a longtemps été suspecté d'avoir des effets propres, notamment sur le développement osseux et la réparation de fractures. Le clonage récent d'un récepteur membranaire pourrait apporter de nouvelles données susceptibles d'améliorer les connaissances quant aux effets de la 24,25-$(OH)_2$ D_3 (St-Arnaud *et al.*, 2012 ; pour revue Jones, 2014).

Génétique et niveaux de vitamine D chez l'Homme

La mesure de la composante génétique, ou héritabilité, d'un facteur dépend du type d'étude effectuée. Pour la forme de réserve, la 25-OH D_3, et la forme active, la 1,25-$(OH)_2$ D_3, l'héritabilité a été quantifiée dans des études utilisant des vrais et des faux jumeaux. Cette héritabilité varie de 43 à 77 % pour la 25-OH D_3, et de 65 % pour la 1,25-$(OH)_2$ D_3. Dans des études sur des familles, la mesure de l'héritabilité varie de 23 à 80 % pour la 25-OH D_3 et de 16 à 30 % pour la 1,25-$(OH)_2$ D_3 (pour revue, Dastani & Richards, 2013). Des analyses d'association polymorphisme/niveau de 25-OH D_3 par une approche « gène-candidat » a permis d'identifier de façon récurrente plusieurs gènes liés au métabolisme de la vitamine D. Des polymorphismes situés autour des gènes CYP2R1, CYP27B1 et CYP24A1 ont ainsi été identifiés. Des associations entre des polymorphismes situés dans la région du gène VDR et du gène GC (*Group Complement*), qui produit la protéine de liaison de la vitamine D dans le sang, et le niveau de 25-OH D_3 ont également été trouvées. Deux analyses d'association sur génome entier effectuées sur plusieurs milliers de personnes (respectivement 6722 et 33 996 individus) ont permis de confirmer la relation entre des polymorphismes des gènes GC, CYP2R1 et CYP24A1 et le niveau de 25-OH D_3 circulante et aussi de suspecter une relation avec un polymorphisme du VDR. Un nouveau gène a été identifié dans les deux études et confirmé dans une étude « gène-candidat ». Il s'agit du gène DHCR7. Si celui-ci n'a pas de lien apparent avec le métabolisme de la vitamine D, il s'agit néanmoins du gène codant une enzyme du métabolisme du cholestérol et ayant pour substrat le 7-déhydrocholestérol qui n'est autre que le composé transformé en vitamine D au niveau de la peau sous l'action des ultraviolets. Le lien entre le gène DHCR7 et le niveau sanguin de 25-OH D_3 pourrait être un effet de compétition sur l'utilisation du substrat commun, le 7-déhydrocholestérol, mais ceci reste à démontrer (pour revue, Dastani & Richards, 2013).

Apports de la génétique humaine et des modèles de souris génétiquement modifiées à la compréhension de l'effet de la vitamine D sur le métabolisme phosphocalcique

L'invalidation du VDR a été effectuée indépendamment par plusieurs équipes à la fin des années 1990 (pour revue Demay, 2013). Les effets obtenus sur le métabolisme phosphocalcique ressemblent à ceux observés dans certaines mutation humaines du VDR produisant une résistance totale à la vitamine D tels que le rachitisme, l'hypocalcémie et des taux très élevés de PTH et de 1,25-$(OH)_2$ D_3. L'absorption intestinale du calcium est fortement abaissée chez ces souris, soulignant le rôle essentiel de la vitamine D dans ce mécanisme. Le seul traitement efficace pour ces patients consiste en des perfusions de calcium qui suffisent à améliorer l'ensemble des paramètres phosphocalciques. D'ailleurs, il a suffit de nourrir ces souris invalidées avec un régime riche en calcium et en lactose pour obtenir des résultats similaires. Le phénotype de ces souris a posé la question du rôle du VDR dans le métabolisme phosphocalcique.

Rôle du VDR dans l'intestin et sur l'absorption du calcium

Une expérience de rétablissement de l'expression du VDR dans l'intestin chez des souris ayant une invalidation totale pour le VDR a été réalisée chez des souris pour lesquelles le VDR est invalidé dans le reste du corps (Xue *et al.*, 2009). Ce sauvetage de l'expression du VDR dans l'intestin conduit à un rétablissement de l'absorption du calcium intestinal sous contrôle de la vitamine D, et à un métabolisme phosphocalcique et une minéralisation de l'os normaux. Ceci montre clairement le rôle prépondérant de l'absorption du calcium dans l'intestin sous contrôle de la vitamine D sur le maintien de l'homéostasie phosphocalcique. À l'inverse, des souris chez lesquelles le VDR a été invalidé spécifiquement dans l'intestin montrent une forte diminution de l'absorption du calcium intestinal (Lieben *et al.*, 2012). La présence du VDR dans les autres tissus impliqués dans le maintien de l'homéostasie phosphocalcique suffit à maintenir une calcémie, une taille et un poids normaux sans aucun signe de rachitisme. Ainsi, le maintien de la calcémie est obtenu au détriment de la masse osseuse à travers une augmentation des niveaux de PTH et surtout de 1,25-$(OH)_2$ D_3, et est associé à une diminution de la minéralisation de l'os et a une très faible masse osseuse. Physiologiquement, les niveaux élevés de PTH et de 1,25$(OH)_2$ D_3 contribuent à maintenir les niveaux de calcium dans le sang en stimulant la réabsorption du calcium au niveau du rein et en permettant la mobilisation du calcium du squelette (pour revue Christakos *et al.*, 2014).

Effet de la vitamine D sur l'absorption active du calcium dans l'intestin

Dans les cellules de la bordure en brosse de l'intestin, trois gènes semblent impliqués dans le transport actif du calcium sous contrôle de la vitamine D. Il s'agit de TRPV6 qui code pour un canal calcique localisé sur la bordure en brosse, de la calbindine 9k (CABP9k) qui permet le transport du calcium à travers la cellule sans toxicité, et enfin de la pompe magnésium/calcium PMCA1b qui permet le rejet actif du calcium dans la circulation sanguine (pour revue, Christakos *et al.*, 2014). Dans le modèle d'invalidation du VDR chez la souris, le niveau d'expression de TRPV6 est réduit de plus de 90 % et celui de CaBP9k de 50 %. Cependant, des études d'invalidation de TRPV6 et de CaBP9k chez la souris montrent que dans ces deux cas le transport actif du calcium dépendant de la vitamine D existe toujours, suggérant des mécanismes de compensation par d'autres protéines ayant des fonctions similaires. D'ailleurs, chez ces souris invalidées, la masse osseuse est similaire à celle des souris sauvages. C'est seulement en soumettant les souris déficientes en TRPV6 à un régime pauvre en calcium que l'absorption du calcium diminue par rapport aux souris sauvages dans les mêmes conditions. Chez des souris $TRPV6^{-/-}$ et $CaBP9k^{-/-}$, une baisse de 60 % de l'absorption du calcium sous contrôle de la vitamine D a été finalement détectée. Par ailleurs, le rôle de TRPV6 dans cette absorption est confirmé chez des souris transgéniques surexprimant TRPV6 2000 fois dans l'intestin : elles deviennent alors hypercalcémiques.

Une autre composante de l'absorption du calcium dans l'intestin est le transport paracellulaire, processus non saturable qui se produit au niveau des jonctions serrées intercellulaires. Chez les souris invalidées pour le VDR, l'expression de deux gènes composants codant pour ces jonctions serrées, Claudin-2 et Claudin-12, est diminuée dans le jéjunum, l'iléum et le colon. Cet effet pourrait être impliqué dans la baisse d'absorption du calcium par l'intestin chez les souris invalidées pour le VDR (pour revue Christakos, 2012).

Rôle du récepteur de la vitamine D dans l'os sur la minéralisation osseuse

Bien que le manque de vitamine D entraîne une perte de calcium dans l'os, un rôle de la vitamine D

dans la sortie du calcium de l'os a toujours été suspecté (Garabedian *et al.*, 1972, 1974 ; Underwood & DeLuca 1984 ; Mathews *et al.*, 1986), mais reste néanmoins très controversé. Une expérience de greffe osseuse hétérologue a confirmé le rôle joué par la vitamine D sur la mobilisation du calcium de l'os. En effet, la greffe de tissu osseux provenant de souris invalidées pour le VDR chez une souris sauvage a permis de montrer une augmentation de la densité osseuse du greffon alors qu'inversement la densité osseuse d'un greffon de tissu osseux sauvage chez une souris invalidée est réduite (Tanaka *et al.*, 2004). Très récemment, le VDR a été spécifiquement invalidé sous contrôle du promoteur du collagène de type I dans des ostéoblastes immatures de souris. Ce modèle a confirmé les résultats obtenus dans les expériences de greffe (Yamamoto *et al.*, 2013) et montre un maintien de la formation d'os ainsi qu'une diminution de la résorption osseuse. Les souris chez lesquelles le VDR a été surexprimé dans les ostéoblastes matures et dans les ostéocytes sous le contrôle du promoteur de l'ostéocalcine montrent, quant à elles, une augmentation de la formation osseuse et une suppression de la résorption osseuse avec pour conséquence un accroissement de la masse osseuse (Gardiner *et al.*, 2000 ; Baldock *et al.*, 2006). Enfin, la suppression de l'expression du VDR spécifiquement dans les ostéocytes, sous contrôle du promoteur de DMP1, n'affecte pas les paramètres osseux si l'apport de calcium est normal (Lieben *et al.*, 2012 ; pour revue, Lieben & Carmeliet, 2012).

Effet de la vitamine D sur la glande parathyroïdienne

L'invalidation du VDR spécifiquement dans la glande parathyroïdienne, où il est abondamment exprimé et qui est le site de production de la PTH, a produit des résultats mitigés. Le niveau d'expression de récepteur au calcium est fortement diminué, comme chez les souris $VDR^{-/-}$, mais les niveaux de calcium et de PTH circulants ne sont que modérément augmentés. De plus, la réponse de l'expression de la PTH aux variations de concentrations de calcium est conservée. Les auteurs indiquent un rôle modéré du VDR dans la glande parathyroïdienne sur le maintien de l'homéostasie phosphocalcique (Meir *et al.*, 2009).

Conclusion

Les mécanismes majeurs de la synthèse et de l'action de la vitamine D ont pu être décrits chez des patients du fait de l'existence de mutations invalidantes. Une description plus détaillée de ces effets a été possible grâce à la génération de souris invalidées pour les différents gènes impliqués dans ces effets. Une étape supplémentaire a été franchie récemment grâce à l'invalidation tissu-spécifique des gènes clés du système vitamine D chez la souris. Malgré tout, des étapes clés de l'homéostasie phosphocalcique restent encore à découvrir, concernant à la fois le métabolisme de la vitamine D (par exemple la production de 25-OH D_3) et son action (l'absorption du calcium dans l'intestin sous contrôle de la vitamine D). Du fait de l'action tissu- et cellule-spécifique de la vitamine D, et de l'existence d'effets non classiques de la vitamine D (par exemple dans le système immunitaire, pour revue : Cantorna 2006 ; Baeke *et al.*, 2010 ; le système nerveux, pour revue : Fernandes de Abreu *et al.*, 2009 ; DeLuca *et al.*, 2013 ; ou le cancer, Krishnan & Feldman, 2011), des nouveaux modèles de souris devront être créés dans les prochaines années pour mieux comprendre le rôle de la vitamine D.

Références

Ahn J., Yu K., Stolzenberg-Solomon R., Simon K.C., McCullough M.L., Gallicchio L., Jacobs E.J., Ascherio A., Helzlsouer K., Jacobs K.B., Li Q., Weinstein S.J., Purdue M., Virtamo J., Horst R., Wheeler W., Chanock S., Hunter D.J., Hayes R.B., Kraft P., Albanes D., Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet*, 2010, 19, 2739−2745.

Angus T.C., Askew F.A., Bourdillon R.B., Bruce H.M., Callow R., Fischmann C., Philpot L., Webster T.A., A crystalline antirachitic substance. *Proc Royal Soc Ser B,* 1931, 108, 340–359.

Baeke F., Takiishi T., Korf H., Gysemans C., Mathieu C., Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 4, 482–496.

Baldock P.A., Thomas G.P., Hodge J.M., Baker S.U., Dressel U., O'Loughlin P.D., Nicholson G.C., Briffa K.H., Eisman J.A., Gardiner E.M., Vitamin D action and regulation of bone remodeling: suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast. *J Bone Miner Res*, 2006, 10, 1618–1626.

Cantorna M.T., Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol*, 2006, 92, 60–64.

Casella S.J., Reiner B.J., Chen T.C., Holick M.F., Harrison H.E., A possible genetic defect in 25-hydroxylation as a cause of rickets. *J Pediatr*, 1994, 124, 929–932.

Cheng J.B., Levine M.A., Bell N.H., Mangelsdorf D.J., Russell D.W., Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101, 7711–7715.

Christakos S., Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D_3 regulation of intestinal calcium absorption. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 523, 73−76.

Christakos S., Lieben L., Masuyama R., Carmeliet G., Vitamin D endocrine system and the intestine. *Bonekey Rep*, 2014, 3, 496.

Dastani Z., Li R., Richards B., Genetic regulation of vitamin D levels. *Calcif Tissue Int*, 2013, 92, 106–117.

DeLuca G.C., Kimball S.M., Kolasinski J., Ramagopalan S.V., Ebers G.C., Review: the role of vitamin D in nervous system health and disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2013, 39, 458–484.

Deluca HF. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *Bonekey Rep*. 2014, 3, 479.

Demay M.B., Physiological insights from the vitamin D receptor knockout mouse. *Calcif Tissue Int*, 2013, 92, 99–105.

Fernandes de Abreu D.A., Eyles D., Féron F., Vitamin D, a neuro immunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. *Psychoneuroendocrinology*, 2009, 34, S265–S277.

Fraser D.R., Kodicek E., Unique biosynthesis by kidney of a biological active vitamin D metabolite. *Nature*, 1970, 228, 764–766.

Fukumoto S., Phosphate metabolism and vitamin D. *Bonekey Rep*, 2014, 3, 497.

Garabedian M., Holick M.F., Deluca H.F., Boyle I.T., Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1972, 69, 1673–1676.

Garabedian M., Tanaka Y., Holick M.F., Deluca H.F., Response of intestinal calcium transport and bone calcium mobilization to 1,25-dihydroxyvitamin D3 in thyroparathyroidectomized rats. *Endocrinology*, 1974, 94, 1022–1027.

Gardiner E.M., Baldock P.A., Thomas G.P., Sims N.A., Henderson N.K., Hollis B., White C.P., Sunn K.L., Morrison N.A., Walsh W.R., Eisman J.A., Increased formation and decreased resorption of bone in mice with elevated vitamin D receptor in mature cells of the osteoblastic lineage. *FASEB J*, 2000, 13, 1908–1916.

Haussler M.R., Norman A.W., Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1969, 62, 155–162.

Haussler M.R., Whitfield G.K., Kaneko I., Haussler C.A., Hsieh D., Hsieh J.C., Jurutka P.W., Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcif Tissue Int*, 2013, 92, 77–98.

Hess A.F., Weinstock M., The antirachitic value of irradiated cholesterol and phytosterol. II. Further evidence of change in biological activity. *Methods Enzymol,* 1925, 64, 181–191.

Holick M.F., Schnoes H.K., Deluca H.F., Suda T., Cousins R.J., Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry*, 1971, 10, 2799–2804.

Huldschinsky, K., Heilung von Rachitis durch kiinstliche Hohensonne. *Dtsch med Wschr* 1919, 45, 712–713.

Hyppönen E., Power C., Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr*. 2007, 85, 860−868.

Jones G., Strugnell S.A., DeLuca H.F., Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*, 1998, 78, 1193–1231.

Jones G., Prosser D.E., Kaufmann M., Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J Lipid Res*, 2014, 55, 13–31.

Krishnan A.V., Feldman D., Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2011, 51, 311–336.

Lasky-Su J., Lange N., Brehm J.M., Damask A., Soto-Quiros M., Avila L., Celedón J.C., Canino G., Cloutier M.M., Hollis B.W., Weiss S.T., Litonjua A.A., Genome-wide association analysis of circulating vitamin D levels in children with asthma. *Hum Genet*, 2012, 131, 1495–1505.

Lawson D.E.M., Fraser D.R., Kodicek E., Morris H.R., Williams D.H., Identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a new kidney hormone controlling calcium metabolism. *Nature*, 1971, 230, 228–230.

Lieben L., Carmeliet G., The delicate balance between vitamin D, calcium and bone homeostasis: lessons learned from intestinal- and osteocyte-specific VDR null mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2013. 136, 102−106.

Lieben L., Masuyama R., Torrekens S., Van Looveren R., Schrooten J., Baatsen P., Lafage-Proust M.H., Dresselaers T., Feng J.Q., Bonewald L.F., Meyer M.B., Pike J.W., Bouillon R., Carmeliet G., Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. *J Clin Invest*, 2012, 122, 1803–1815.

Lund J., DeLuca H.F., Biologically active metabolite of vitamin D3 from bone, liver, and blood serum. *J Lipid Res*, 1966, 6, 739–744.

Masuda S., Byford V., Arabian A., Sakai Y., Demay M.B., St-Arnaud R., Jones G., Altered pharmacokinetics of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3 in the blood and tissues of the 25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (Cyp24A1) null mouse. *Endocrinology*, 2005, 146, 825–834.

Mathews C.H., Brommage R., DeLuca H.F., Role of vitamin D in neonatal skeletal development in rats. *Am J Physiol*, 1986, 250, E725–E730.

McCollum E.V., Simmonds N., Pitz W., The relation of the unidentified dietary factors, the fat-soluble a, and watersoluble b, of the diet to the growthpromoting properties of milk. *J Biol Chem*, 1916, 27, 33–43.

McCollum E.V., Simmonds N., Becker J.E., Shipley P.G., Studies on experimental rickets. XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J Biol Chem*, 1922, 53, 293–312.

Meir T., Levi R., Lieben L., Libutti S., Carmeliet G., Bouillon R., Silver J., Naveh-Many T., Deletion of the vitamin D receptor specifically in the parathyroid demonstrates a limited role for the receptor in parathyroid physiology. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 5, F1192–1198.

Mellanby, E., An experimental investigation on rickets. *Lancet,* 1919, 1, 407–412.

Morii H., Lund J., Neville P.F., DeLuca H.F., Biological activity of a vitamin D metabolite. *Arch Biochem Biophys,* 1967, 120, 508–512.

Norman A.W., Myrtle J.F., Midgett R.J., Nowicki H.G., Williams V., Popjak G., 1,25-Dihydroxycholecalciferol: identification of the proposed active form of vitamin D3 in the intestine. *Science*, 1971, 173, 51–54.

Pike J.W., Genome-wide principles of gene regulation by the vitamin D receptor and its activating ligand. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 347, 3–10.

Pike J.W., Meyer M.B., Fundamentals of vitamin D hormone-regulated gene expression. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2013, S0960-0760, 234–233.

Ponchon G., DeLuca HF., The role of the liver in the metabolism of vitamin D. *J Clin Invest*, 1969, 48, 1273−1279.

Quarles L.D., Skeletal secretion of FGF-23 regulates phosphate and vitamin D metabolism. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8, 276–286.

Schlingmann K.P., Kaufmann M., Weber S., Irwin A., Goos C., John U., Misselwitz J., Klaus G., Kuwertz-Bröking E., Fehrenbach H., Wingen A.M., Güran T., Hoenderop J.G., Bindels R.J., Prosser D.E., Jones G., Konrad M., Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med*, 2011, 365, 410−421.

Signorello L.B., Shi J., Cai Q., Zheng W., Williams S.M., Long J., Cohen S.S., Li G., Hollis B.W., Smith J.R., Blot W.J., Common variation in vitamin D pathway genes predicts circulating 25-hydroxyvitamin D levels among African Americans. *PLoS One*, 2011, 6, e28623.

St-Arnaud, R., Kupscik L., Naja R-P., Husseini A., Arabian A., Novel mechanism of action for 24-hydroxylated vitamin D metabolites in fracture repair. *15th Workshop on Vitamin D*, Houston, Texas, June 16–22, 2012.

Steenbock H., Black A., Fat-soluble vitamins. XVII. The induction of growth-promoting and calcifying properties in a ration by exposure to ultra-violet light. *J Biol Chem*, 1924, 61, 405–422.

Steenbock H., Black A., Nelson M.T., Hoppert C.A., Riising B.M., Fat-soluble vitamins. XXIII. The induction of growth-promoting and calcifying properties in fats and their unsaponifiable constituents by exposure to light. *J Biol Chem*, 1925, 64, 263–298.

Tanaka H., Seino Y., Direct action of 1,25-dihydroxyvitamin D on bone: VDRKO bone shows excessive bone formation in normal mineral condition. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2004, 89-90, 343–345.

Underwood J.L., DeLuca H.F., Vitamin D is not directly necessary for bone growth and mineralization. *Am J Physiol*, 1984, 246, E493–E498.

Velluz L., Amiard G., Equilibre de réaction entre précalciférol et calciférol. *C R Hebd Séances Acad Sci,* 1949, 228, 692–694.

Wang T.J., Zhang F., Richards J.B., Kestenbaum B., van Meurs J.B., Berry D., Kiel D.P., Streeten E.A., Ohlsson C., Koller D.L., Peltonen L., Cooper J.D., O'Reilly P.F., Houston D.K., Glazer N.L., Vandenput L., Peacock M., Shi J., Rivadeneira F., McCarthy M.I., Anneli P., de Boer I.H., Mangino M., Kato B., Smyth D.J., Booth S.L., Jacques P.F., Burke G.L., Goodarzi M., Cheung C.L., Wolf M., Rice K., Goltzman D., Hidiroglou N., Ladouceur M., Wareham N.J., Hocking L.J., Hart D., Arden N.K., Cooper C., Malik S., Fraser W.D., Hartikainen A.L., Zhai G., Macdonald H.M., Forouhi N.G., Loos R.J., Reid D.M., Hakim A., Dennison E., Liu Y., Power C., Stevens H.E., Jaana L., Vasan R.S., Soranzo N., Bojunga J., Psaty B.M., Lorentzon M., Foroud T., Harris T.B., Hofman A., Jansson J.O., Cauley J.A., Uitterlinden A.G., Gibson Q., Järvelin MR, Karasik D, Siscovick DS, Econs MJ, Kritchevsky SB, Florez JC, Todd JA, Dupuis J., Hyppönen E., Spector T.D.. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 2010, 376, 180–188.

Windaus A., Linsert O., Luttringhaus A., Weidlinch G., Uber das krystallisierte Vitamin D2. *Justus Liebigs Ann Chem*, 1932, 492, 226–231.

Windaus A., Schenck F., von Werder F., Uber das antirachitisch wirksame Bestrahlungs-produkt aus 7-Dehydrocholesterin. *Hoppe-Seylers Ztschr physiol Chem,* 1936, 241, 100–103.

Xue Y., Fleet J.C., Intestinal vitamin D receptor is required for normal calcium and bone metabolism in mice. *Gastroenterology*, 2009, 136, 1317-1327, e1–2.

Yamamoto Y., Yoshizawa T., Fukuda T., Shirode-Fukuda Y., Yu T., Sekine K., Sato T., Kawano H., Aihara K., Nakamichi Y., Watanabe T., Shindo M., Inoue K., Inoue E., Tsuji N., Hoshino M., Karsenty G., Metzger D., Chambon P., Kato S., Imai Y., Vitamin D receptor in osteoblasts is a negative regulator of bone mass control. *Endocrinology*, 2013, 154, 1008–1020.

Zhu J., DeLuca H.F., Vitamin D 25-hydroxylase - Four decades of searching, are we there yet? *Arch Biochem Biophys*, 2012, 523, 30–36.

Zhu J.G., Ochalek J.T., Kaufmann M., Jones G., Deluca H.F., CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110, 15650–15655.