

ARTICLE

Stress du réticulum endoplasmique et stéatopathies métaboliques

Floriane Lachkar, Alexandra Papaioannou, Pascal Ferré, et Fabienne Foufelle*

Centre de recherches des Cordeliers, UMRS1128 Inserm, Sorbonne Université, 15 rue de l'École de Médecine, 75270 Paris cedex 06, France

Reçu le 8 juin 2020

Résumé—Les stéatopathies métaboliques sont des pathologies en pleine expansion car très associées à l'obésité. Elles englobent un éventail de troubles hépatiques allant de la stéatose à la stéatohépatite non alcoolique (NASH) pouvant conduire à la cirrhose et au carcinome hépatocellulaire (CHC). Le stress du réticulum endoplasmique (RE), à travers l'activation de la voie UPR (*Unfolded Protein Response*), a été largement impliqué dans le développement et la progression de ces maladies métaboliques hépatiques. Alors que l'activation transitoire de la voie UPR fait partie intégrante de la physiologie hépatique, son activation chronique contribue à la stimulation de voies métaboliques et cellulaires (synthèse des lipides, inflammation, apoptose) qui sont déterminantes dans la progression vers des stades sévères. Le but de cette revue est de décrire comment la voie UPR participe au passage d'un foie sain à un foie malade au cours de l'obésité et d'analyser les perspectives thérapeutiques liées à la manipulation pharmacologique de cette voie.

Mots clés : obésité, lipides, inflammation, stress du réticulum endoplasmique, UPR

Abstract - ER stress and NAFLD. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a highly prevalent pathology associated with obesity. It encompasses a spectrum of hepatic disorders ranging from steatosis to non-alcoholic steatohepatitis (NASH), which may lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). Endoplasmic reticulum (ER) stress has been widely involved to drive in NAFLD progression through the activation of the unfolded protein response (UPR). While transient UPR activation can boost hepatic ER functions, its continuous activation upon a chronic ER stress contributes to lipid accumulation, inflammation and hepatocyte death, which are determinant factors for the progression to more severe stages. The aim of this review is to describe the mechanisms through which the UPR can take part in the transition from a healthy to a diseased liver and to report on possible ways of pharmacological manipulation against these pathological mechanisms.

Keywords: obesity, lipids, inflammation, ER stress, UPR

Abréviations

ASK1	<i>Apoptosis Signal-regulating Kinase 1</i>
ATF4	<i>Activating Transcription Factor 4</i>
ATF6	<i>Activating Transcription Factor 6</i>
BiP	<i>Binding immunoglobulin Protein</i>
CHC	Carcinome hépatocellulaire
CHOP	<i>C/EBP Homologous Protein</i>
ChREBP	<i>Carbohydrate Response Element-Binding Protein</i>
CRP	<i>C-Reactive Protein</i>
eIF2 α	Facteur d'initiation de la traduction

ERAD	<i>ER-Associated Degradation</i>
HSC	<i>Hepatic Stellate Cell</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
IRE1 α	<i>Inositol-Required Endoribonuclease 1α</i>
MAM	<i>Mitochondria-Associated Membranes</i>
NAFLD	<i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NASH	<i>Non-Alcoholic Steatohepatitis</i>
NLRP3	<i>NOD-Like Receptor family, Pyrin domain-containing 3</i>
PERK	<i>PKR-like ER Kinase</i>
RE	Réticulum Endoplasmique
RIDD	<i>Regulated-IRE1 Dependent Decay</i>
SERCA	Sarco/endoplasmique réticulum Ca ²⁺ ATPase
SREBP-1c	<i>Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c</i>

* Auteur correspondant :

fabienne.foufelle@crc.jussieu.fr

Stress RE	Stress du réticulum endoplasmique
TRAF2	<i>TNF Receptor-Associated Factor 2</i>
TGF β	<i>Transforming Growth Factor β</i>
UPR	<i>Unfolded Protein Response</i>
VLDL	Lipoprotéines de très faible densité
XBP1	<i>X Box-Binding Protein 1</i>

Introduction

L'épidémie actuelle d'obésité est étroitement associée à une occurrence croissante des maladies métaboliques hépatiques couramment désignées par l'acronyme anglais NAFLD pour *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*. La prévalence mondiale de la NAFLD est estimée à 25 % dans la population générale mais peut atteindre 80 à 90 % chez les individus obèses (Younossi *et al.*, 2018). La NAFLD englobe un éventail de troubles hépatiques, allant de la simple stéatose hépatique ou foie gras, à la stéatohépatite non alcoolique plus connue sous le nom de NASH (*Non-Alcoholic Steatohepatitis*) qui peut elle-même progresser vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire (CHC). La stéatose hépatique constitue la première étape dans l'évolution de la maladie et elle est plutôt considérée comme bénigne car facilement réversible par les règles hygiéno-diététiques (régime, activité physique). Elle peut néanmoins évoluer dans certains cas vers la NASH au pronostic plus sévère. La NASH se définit par la présence d'une stéatose qui conduit progressivement à l'apparition de lésions inflammatoires, à l'activation de processus de mort hépatocytaire par apoptose ou nécrose, puis au développement de la fibrose. La présence d'une NASH est un facteur de risque important de développer une cirrhose ou un CHC et elle est associée à une mortalité élevée chez les patients obèses.

De nombreux mécanismes cellulaires et moléculaires ont été explorés dans le développement de la NAFLD, pourtant les mécanismes physiopathologiques de la maladie restent encore mal compris. Ces dernières années, le stress du réticulum endoplasmique (Baiceanu *et al.*, 2016) a été décrit comme jouant un rôle déterminant dans la progression de la NAFLD. Dans cette revue, nous montrerons comment les conditions physiopathologiques liées à l'obésité conduisent à l'activation du stress du RE et de l'UPR dans le foie et comment ces phénomènes participent au développement de la NAFLD.

Réticulum endoplasmique, stress du réticulum endoplasmique et UPR dans le foie

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organite cellulaire existant dans toutes les cellules eucaryotes. Il est particulièrement développé dans les hépatocytes puisque ses membranes représentent à elles seules 50 % du contenu membranaire total dans cette cellule. Le RE possède des fonctions très diverses allant de la synthèse de la plupart des lipides à la régulation du calcium intracellulaire, la

détoxification de molécules et la synthèse/maturation des protéines sécrétées ou membranaires (Almanza *et al.*, 2019). Deux types de RE coexistent dans les cellules, d'une part, le RE lisse au niveau duquel sont synthétisés la plupart des lipides (triglycérides, cholestérol, sphingolipides, phospholipides) et où sont détoxifiés, grâce à la présence des cytochromes P450, les xénobiotiques, les médicaments lipophiles et l'alcool et, d'autre part, le RE rugueux (caractérisé en microscopie électronique par la présence de ribosomes sur la face cytosolique des membranes) qui est particulièrement développé dans l'hépatocyte et joue quant à lui un rôle majeur dans la synthèse protéique. En effet, les hépatocytes sont des cellules qui synthétisent et sécrètent la majorité des protéines plasmatiques (à l'exception des immunoglobulines). Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) qui exportent les lipides du foie vers les tissus périphériques naissent également par bourgeonnement à partir des membranes du RE rugueux.

Avec la cellule β du pancréas et les plasmocytes, l'hépatocyte est une des cellules qui présente une fonction sécrétoire très intense. Les protéines qui sont sécrétées ou destinées aux différentes membranes cellulaires sont orientées au début de leur traduction vers le RE grâce à la présence d'un peptide signal. Elles entrent dans la lumière du RE au cours de leur synthèse sous la forme de polypeptides naissants. Une fois dans la lumière, elles sont associées à des protéines chaperonnes résidentes du RE comme la *Binding Immunoglobulin Protein* (BiP) et à des enzymes de repliement des protéines afin de générer des protéines correctement repliées qui pourront transiter par la voie sécrétoire (RE puis appareil de Golgi) afin d'être sécrétées ou intégrées dans les membranes cellulaires.

L'altération d'une des fonctions du RE, telle qu'une synthèse protéique excessive conduisant à une accumulation de protéines mal repliées dans la lumière du RE, une accumulation de lipides ou encore une modification de la concentration de calcium intracellulaire, va perturber l'homéostasie du RE, entraînant un stress du RE. Ce stress, qui pourrait être fatal pour la cellule, déclenche une réponse appelée UPR (*Unfolded Protein Response*) dont le but est d'augmenter la capacité de repliement des protéines dans la lumière du RE et, ainsi, de rétablir une homéostasie cellulaire (Hetz *et al.*, 2015).

Trois protéines transmembranaires du réticulum endoplasmique participent à l'UPR: IRE1 α (*Inositol-Required Endoribonuclease 1 α*), une sérine/thréonine kinase dotée d'une activité endoribonucléasique, la kinase PERK (*PKR-like ER Kinase*) et le facteur de transcription ATF6 (*Activating Transcription Factor 6*). En l'absence de stress, IRE1 α , PERK et ATF6 sont maintenues inactives par liaison de la protéine chaperonne BiP avec leur domaine luminal. Lors d'un stress du RE, BiP se dissocie des trois senseurs, afin d'aider au repliement des protéines qui s'accumulent dans la lumière du RE, ce qui conduit à l'activation des trois protéines senseurs de l'UPR (Hetz *et al.*, 2015) (Figure 1).

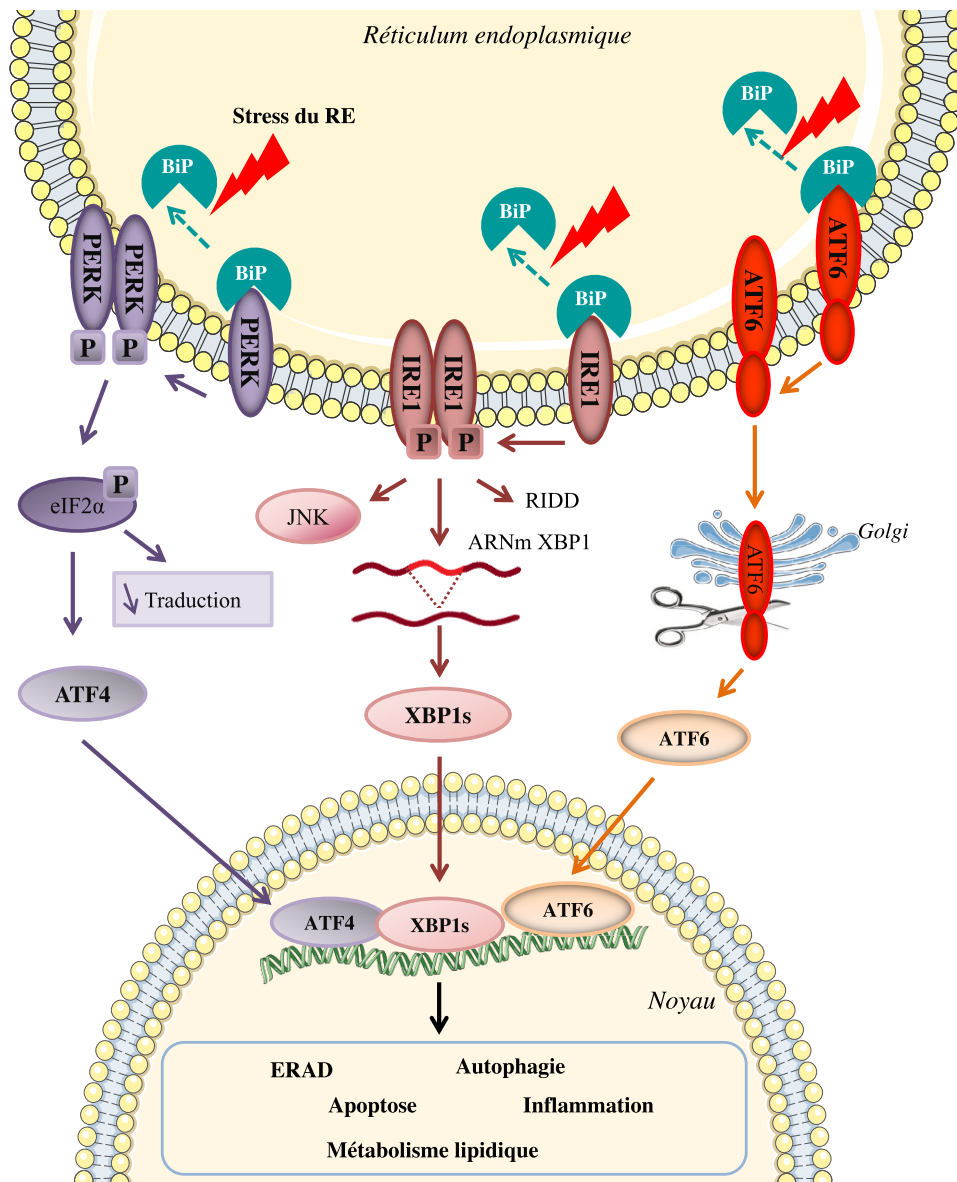


Figure 1. La voie UPR. L'accumulation de protéines mal repliées dans la lumière du RE va entraîner un stress du RE. Ceci a pour conséquence de dissocier la chaperonne BiP des trois protéines effectrices de la voie UPR : PERK, IRE1 et ATF6. PERK s'homodimérise et s'autophosphoryle et va phosphoryler le facteur d'initiation de la traduction eIF2 α conduisant à une inhibition globale de la traduction. La traduction de certains messagers comme celui d'ATF4 est au contraire augmentée. L'activation par oligomérisation et autophosphorylation d'IRE1 permet : (1) l'activation de la voie de JNK, (2) l'épissage de l'ARNm d'XBP1 qui génère le facteur de transcription XBP1s et (3) la dégradation de certains ARNm par la voie RIDD. Lors d'un stress du RE, la forme précurseur d'ATF6 est transloquée vers l'appareil de Golgi où elle est clivée protéolytiquement, générant le facteur de transcription ATF6 actif. ATF4, XBP1s et ATF6 vont permettre l'activation de gènes codant pour des protéines chaperonnes, pour des protéines impliquées dans l'autophagie et l'apoptose et pour des protéines de l'ERAD afin de rétablir l'homéostasie du RE.

L'activation de la voie PERK est la première à se mettre en place. Celle-ci va entraîner la phosphorylation du facteur d'initiation de la traduction (eIF2 α) conduisant à une inhibition globale de la synthèse protéique et diminuant ainsi l'arrivée de nouvelles protéines dans la lumière du RE. La traduction de certains ARNm possédant une structure particulière au niveau de leur région 5' non traduite est paradoxalement augmentée lors d'un stress du RE. C'est, par exemple, le cas du facteur de

transcription ATF4 (*Activating Transcription Factor 4*) qui, lorsqu'il est traduit, active la transcription de gènes impliqués dans le métabolisme des acides aminés, l'autophagie, la réponse anti-oxydante et l'apoptose en activant par exemple les gènes pro-apoptotiques comme *C/EBP Homologous Protein* (CHOP) et *Tribbles homolog 3*. Les deux autres voies de l'UPR, IRE1 et ATF6, sont ensuite mises en place. À la suite d'un stress du RE, IRE1 va s'oligomériser et s'autophosphoryler sur son domaine

sérine/thréonine kinase, permettant ainsi de démasquer une activité endonucléase. Ceci permet, d'une part, l'épissage de l'ARNm de la *X Box-Binding Protein 1* (XBP1) générant le facteur de transcription XBP1s et, d'autre part, la dégradation de certains ARNm *via* un mécanisme appelé RIDD (*Regulated-IRE1-Dependent Decay*). *Via* son domaine kinase, IRE1 recrute également la protéine adaptatrice TRAF2 (*TNF Receptor-Associated Factor 2*) et phosphoryle la kinase ASK1 (*Apoptosis Signal-regulating Kinase 1*) conduisant ainsi à l'activation de la voie de signalisation de la JNK (*c-Jun N-terminal Kinase*). Le dernier senseur de l'UPR est le facteur de transcription ATF6. Lors d'un stress du RE, la forme précurseur d'ATF6, initialement localisée dans le RE, est transportée dans le Golgi où elle subit un double clivage protéolytique par les protéases S1P et S2P (*Site 1 et Site 2 Proteases*) libérant une forme transcriptionnellement active. Les différents facteurs de transcription synthétisés à la suite de l'activation des trois branches de l'UPR (XBP1s, ATF4 et ATF6) vont alors assurer la réponse transcriptionnelle de la voie UPR conduisant à la synthèse de nombreuses protéines du RE qui aideront à la maturation des protéines. Ces facteurs de transcription contribuent également à la mise en place d'un voie de dégradation associée au RE (ERAD pour *ER-Associated Degradation*) qui permet de re-transloquer les protéines du RE vers le cytoplasme afin qu'elles soient dégradées par le protéasome. Ils activent également l'autophagie qui permettra également de dégrader les protéines mal repliées. Si l'ensemble de ces mécanismes ne permettent pas de restaurer l'homéostasie normale du RE, un processus d'apoptose de la cellule peut être déclenché puisque chaque branche de l'UPR peut activer des protéines pro-apoptotiques (CHOP par exemple pour la voie PERK ou JNK pour la voie IRE1) (Baiceanu *et al.*, 2016) (Figure 1).

L'UPR, Dr Jekyll et Mr Hyde de la physiopathologie hépatique

L'intensité et la durée de la réponse UPR va être déterminante pour le devenir de la cellule. Une réponse UPR transitoire est un mécanisme physiologique qui permet aux hépatocytes de s'adapter à des modifications passagères de leur environnement : afflux de nutriments, de substances toxiques, etc. Ainsi, une augmentation des marqueurs de l'UPR est observée en période post-prandiale en réponse à l'insuline, ce qui favorise la synthèse protéique et cette réponse s'atténue progressivement à distance des repas (Boden *et al.*, 2011, 2014). Une activation de la voie RIDD associée à IRE1 est également observée au cours de l'exposition à l'acétaminophène, permettant la dégradation de l'ARNm de deux enzymes P450 responsables de la métabolisation du médicament en une substance toxique pour le foie (Hur *et al.*, 2012). Au cours de la NAFLD, la réponse UPR devient chronique et va contribuer à l'évolution de la maladie vers la NASH en favorisant l'inflammation, l'apoptose des hépatocytes et les désordres métaboliques associés.

L'obésité, une situation physiopathologique associée à l'activation du stress du RE dans le foie

Le premier lien entre obésité et stress du RE a été proposé par l'équipe de Gökhan Hotamisligil à Boston qui a mis en évidence une activation des marqueurs du stress du RE dans le foie de souris génétiquement obèses (ob/ob et db/db) ou rendues obèses par un régime riche en graisses (Ozcan *et al.*, 2004). Par la suite, une activation du stress du RE a également été documentée dans le foie de différents modèles animaux de stéatose et de NASH. Une activation de l'UPR a également été observée dans le foie de patients souffrant d'une stéatose ou d'une NASH (Lake *et al.*, 2014). La diminution du contenu lipidique du foie à la suite d'une perte de poids après chirurgie bariatrique permet de normaliser les marqueurs du stress du RE dans le foie des patients obèses (Gregor *et al.*, 2009), soulignant le rôle important des lipides dans l'activation du stress du RE.

Plusieurs facteurs pourraient être associés à l'activation du stress du RE dans le foie au cours de l'obésité. L'inflammation chronique caractéristique des maladies métaboliques pourrait participer à cette activation. Il a en effet été montré que les cytokines pro-inflammatoires pouvaient activer les différentes branches de la voie UPR. Parmi les autres facteurs, les lipides ont fait l'objet d'une attention particulière. En effet, l'accumulation de lipides dans le foie, qui est la caractéristique principale des maladies métaboliques hépatiques, joue un rôle majeur dans l'activation de l'UPR. Les études *in vitro* sur des cultures primaires d'hépatocytes montrent que le cholestérol libre, les acides gras saturés comme le palmitate ou des espèces dérivées comme les céramides induisent un stress du RE (Wei *et al.*, 2006). *In vivo*, chez les souris obèses, l'accumulation excessive de lipides dans le foie s'accompagne d'un changement dans la composition phospholipidique des membranes du RE avec un rapport phosphatidylcholine (PC)/phosphatidyléthanolamine (PE) augmenté, altérant la fluidité de la membrane. Ce changement du ratio PC/PE est à l'origine d'une diminution de l'activité de la SERCA (Sarco/Endoplasmique Reticulum Ca^{2+} ATPase), la pompe qui permet l'entrée du Ca^{2+} dans le RE. Ceci a pour conséquence principale de diminuer l'efficacité des protéines chaperonnes dont l'activité est Ca^{2+} dépendante, et donc d'entraîner une accumulation de protéines mal repliées dans la lumière du RE et l'apparition d'un stress du RE. Une surexpression de la protéine SERCA ou une correction du rapport PC/PE chez les souris obèses permet de diminuer le stress du RE dans le foie, de réduire la stéatose et d'améliorer les paramètres métaboliques de ces animaux (Fu *et al.*, 2011).

Les senseurs de l'UPR, IRE1 α et PERK, pourraient également agir comme des senseurs lipidiques en détectant *via* leur domaine transmembranaire les caractéristiques biophysiques des membranes lipidiques, notamment le

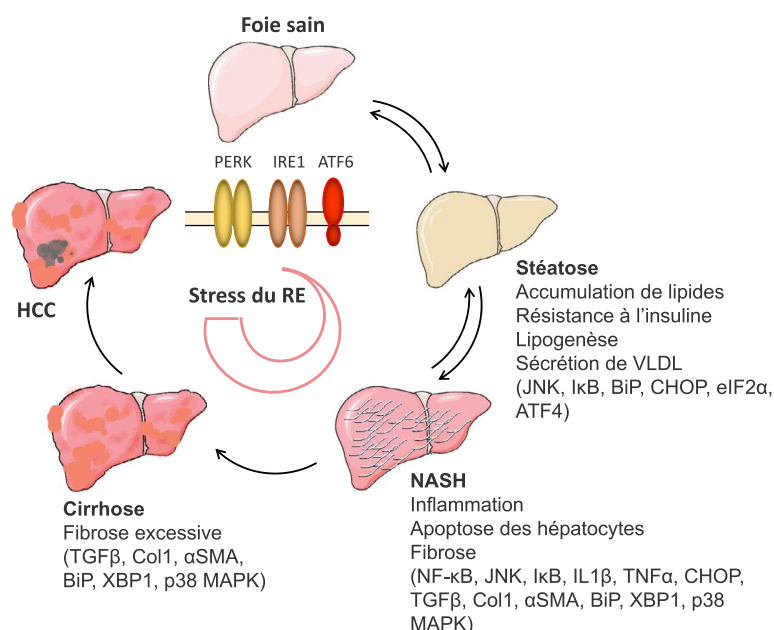


Figure 2. La voie UPR dans les NAFLD. Les trois senseurs de l'UPR, PERK, IRE1 et ATF6, jouent un rôle-clé dans la progression des NAFLD. Alors que l'UPR transitoire joue un rôle dans le maintien de l'homéostasie du foie, l'UPR chronique peut conduire à la stéatose par son implication dans la lipogenèse et la sécrétion de VLDL. Le passage d'une voie UPR chronique à une voie UPR terminale intervient dans la progression vers la NASH par son implication dans l'inflammation, la mort des hépatocytes et la fibrose. Avec le développement du CHC, une voie UPR résistante favorise la progression maligne. Les facteurs impliqués en aval des trois senseurs UPR sont indiqués entre parenthèses.

rapport des chaînes acyles insaturées et saturées qui affectent la fluidité et l'épaisseur de la membrane (Volmer *et al.*, 2013).

Conséquences de l'activation de la voie UPR dans les NAFLD (Figure 2)

Stéatose hépatique

La stéatose hépatique se caractérise par une accumulation de lipides (principalement des triglycérides) affectant plus de 5% des hépatocytes. Elle est la conséquence d'un déséquilibre entre les voies d'apport d'acides gras au foie (synthèse *de novo* par la lipogenèse, apport alimentaire, acides gras libres circulants) et les voies d'élimination ou d'export (oxydation mitochondriale, sécrétion des VLDL). Il a été mis en évidence en utilisant des isotopes stables que, chez les patients obèses développant une stéatose hépatique ou une NASH, 60% des acides gras provenaient de la circulation (lipolyse adipocytaire), 30% de la lipogenèse et 10% de l'alimentation (Donnelly *et al.*, 2005). Le stress du RE et la réponse UPR qui se mettent en place dans le foie au cours de l'obésité vont participer à l'exacerbation de la stéatose hépatique en induisant la lipogenèse hépatique, en diminuant la β -oxydation mitochondriale et en diminuant la sécrétion des VLDL.

La lipogenèse hépatique est la voie de biosynthèse des acides gras à partir du glucose. Dans les conditions physiologiques, la lipogenèse est activée à un niveau transcriptionnel par le glucose et l'insuline qui vont activer

respectivement les facteurs de transcription *Carbohydrate Response Element-Binding Protein* (ChREBP) et *Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1c* (SREBP-1c). Paradoxalement, la lipogenèse reste très active dans les états d'insulinorésistance comme au cours de l'obésité. Notre équipe a montré que, dans cette situation, le stress du RE activait SREBP-1c en induisant le clivage protéolytique de sa forme précurseur ancrée dans les membranes du RE en une forme transcriptionnellement active, conduisant à une induction de l'expression de toutes les enzymes de la lipogenèse. L'inhibition du stress du RE par surexpression de la chaperonne BiP dans le foie de souris obèses permet de diminuer l'activation de SREBP-1c, le contenu hépatique en triglycérides et d'améliorer la sensibilité à l'insuline (Kammoun *et al.*, 2009).

Le stress du RE peut également favoriser la lipogenèse hépatique de manière indirecte *via* l'induction des branches IRE1 et PERK de l'UPR. En effet, le facteur de transcription XBP1 (produit lors de l'activation de IRE1) renforce l'action de SREBP-1c en induisant son expression (Ning *et al.*, 2011) et active la lipogenèse *de novo* indépendamment de SREBP-1c en se liant aux promoteurs de gènes qui codent pour des enzymes lipogéniques, telles que l'acétyl-CoA carboxylase ou l'acyl-CoA désaturase (Lee *et al.*, 2008).

La branche PERK a été également largement impliquée dans le contrôle de la lipogenèse et dans le développement de la stéatose avec toutefois des résultats contradictoires. La suppression de PERK diminue la lipogenèse *de novo* dans la glande mammaire et dans les adipocytes de souris (Bobrovnikova-Marjon *et al.*, 2008).

De même, les souris présentant une déphosphorylation prolongée de eIF2 α (Oyadomari *et al.*, 2008) ou des souris délétées pour le gène *Atf4* (en aval de PERK) (Xiao *et al.*, 2013) sont protégées de la stéatose hépatique et de l'obésité. Cependant, de manière surprenante, les souris invalidées pour *Chop*, une cible en aval de l'ATF4, développent une stéatose hépatique associée à l'obésité (Maris *et al.*, 2012).

L'activation de la lipogenèse s'accompagne en général d'une inhibition de la β -oxydation. En effet, le malonyl-CoA, métabolite produit par la lipogenèse hépatique est un inhibiteur allostérique de la CPT1 (*Carnitine Palmitoyl Transferase*), enzyme nécessaire à l'entrée des acides gras dans la mitochondrie. Cependant, au cours de l'obésité, la β -oxydation des acides gras et l'activité du cycle de Krebs peuvent être temporairement augmentées dans les foies des souris et de patients obèses (Satapati *et al.*, 2012). Cette augmentation transitoire des activités de la β -oxydation des acides gras et du cycle de Krebs (cycle des acides tricarboxyliques) est probablement favorisée par une disponibilité accrue des lipides et par l'enrichissement des contacts RE-mitochondries (appelés MAM pour *Mitochondria-Associated Membranes*). Les MAM sont impliquées dans le transfert de Ca²⁺ et de lipides entre les deux organites. Il a été montré que les MAM sont présentes dans les hépatocytes de souris obèses (Arruda *et al.*, 2014), entraînant une augmentation du flux de Ca²⁺ vers les mitochondries et l'activation des enzymes dépendantes du Ca²⁺ dans la matrice mitochondriale, ce qui contribue probablement à l'augmentation de l'activité du cycle TCA.

Enfin, le stress du RE inhibe la synthèse et la sécrétion des VLDL, lipoprotéines d'origine hépatique permettant d'exporter les triglycérides vers les tissus périphériques. (Qiu *et al.*, 2006 ; Ota *et al.*, 2008). Les mécanismes sous-jacents semblent impliquer une inhibition de la synthèse de l'apolipoprotéine B, apolipoprotéine majoritaire des VLDL.

Rôle du stress du RE dans la progression vers la NASH

L'UPR chronique, qui se met en place dans le foie au cours de la stéatose, joue un rôle majeur dans la transition vers la NASH en induisant des processus inflammatoires, de mort cellulaire et de fibrose, les caractéristiques majeures de la stéatohépatite (Lebeaupin *et al.*, 2018a, 2018b).

Stress du RE et inflammation

Lors d'un stress du RE persistant, l'activation d'IRE1 conduit au recrutement de TRAF2 qui va activer la kinase ASK1, puis le facteur de transcription NF κ B et les kinases de la famille JNK, participant à l'activation transcriptionnelle des cytokines pro-inflammatoires. L'activation de la voie PERK à travers l'inhibition globale de la traduction conduit également à l'activation de NF κ B en inhibant la synthèse de la protéine I κ B qui maintient NF κ B inactif dans le cytoplasme.

Le stress du RE est également impliqué dans l'activation de l'inflammasome NLRP3 (*NOD-Like Receptor family, Pyrin domain-containing 3*). NLRP3 est un complexe multiprotéique qui, à travers l'activation des caspases qui lui sont associées, conduit au clivage de pro-cytokines pro-IL-1 β et pro-IL-18 en cytokines inflammatoires IL-1 β et IL-18. L'inflammasome NLRP3 est activé dans les foies de patients et de souris développant une NASH (Lebeaupin *et al.*, 2015). Les souris qui expriment une forme constitutivement active de NLRP3 développent une NASH (Wree *et al.*, 2014) ; au contraire, l'inhibition de NLRP3 améliore la NASH et la fibrose chez les souris obèses (Mridha *et al.*, 2017). De nombreuses études ont établi un lien entre le stress du RE et l'activation de NLRP3. Chez les souris obèses, l'augmentation d'IRE1 α et de PERK conduit à la surexpression de CHOP, qui induit l'expression des caspases-1 et -11, conduisant à l'activation de l'inflammasome NLRP3. IRE1 α par son activité RIDD contribue indirectement à l'activation de NLRP3. En effet, IRE1 dégrade un miARN (miR-17) qui est un inhibiteur de la protéine TXNIP (*Thioredoxin-Interacting Protein*). En dégradant miR-17, IRE1 conduit à l'activation de TXNIP qui se lie et active NLRP3 (Lerner *et al.*, 2012).

Le stress du RE conduit également à l'activation des protéines de la phase inflammatoire aiguë par le foie. Le stress RE induit l'activation du facteur de transcription CREBH, exprimé exclusivement dans le foie, par un mécanisme similaire à celui décrit précédemment pour le facteur ATF6. CREBH est responsable de l'augmentation de la sécrétion des protéines de la phase aiguë (comme la CRP, *C-Reactive Protein*, ou l'hepcidine). Les patients NASH présentent des concentrations de CRP sériques significativement plus élevées que les patients atteints d'une simple stéatose. L'hepcidine est l'hormone peptidique qui régule l'homéostasie du fer. Une surcharge en fer a été observée chez les patients présentant une NASH avec un risque accru d'aggravation vers la fibrose. Les cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF α (*Tumor Necrosis Factor alpha*) ou l'IL-6 (interleukine-6), peuvent induire l'expression de CREBH contribuant ainsi au maintien d'un état inflammatoire lors d'un stress du RE (Zhang *et al.*, 2006).

Stress du RE et fibrose

L'activation de la voie UPR a été observée dans des cellules stellaires hépatiques (HSC pour *Hepatic Stellate Cells*), principales cellules responsables de la fibrogenèse, en réponse à une lésion hépatique *in vivo* mais également *in vitro*, en réponse à des stimuli fibrogéniques tel que le *Transforming Growth Factor β* (TGF β). L'induction de la voie UPR avec des agents chimiques comme la tunicamycine active l'expression de gènes pro-fibrogéniques comme le collagène de type 1 (*Col1*) et l'*alpha Smooth Muscle Actin* (α SMA) et cet effet est réversible si l'un des trois senseurs de la voie UPR est inhibé (Maiers & Malhi, 2019). La signalisation d'IRE1 joue un rôle important dans l'activation des HSC. En effet, l'inhibition de IRE1 α par

un inhibiteur non compétitif qui bloque à la fois son activité kinase et endoribonucléase, bloque l'activation des HSC induite par le TGF β *in vitro* et la fibrose hépatique induite par l'alcool et le tétrachlorure de carbone *in vivo* (Heindryckx *et al.*, 2016). L'activité kinase d'IRE1 influence aussi l'activation des HSC *via* une de ses cibles, p38, qui contrôle la voie de signalisation du TGF β . La tunicamycine induit la phosphorylation de p38 en aval d'IRE1 et l'inhibition de p38 diminue l'expression de *Col1* et d' α SMA (Hernández-Gea *et al.*, 2013). La voie PERK est aussi associée à l'activation des HSC au cours de la fibrose. Il existe en effet une corrélation positive entre la phosphorylation de PERK et l'expression des marqueurs d'activation des HSC dans des modèles murins de fibrose hépatique. Les mécanismes par lesquels la signalisation PERK favorise l'activation HSC n'ont pas été élucidés mais des études récentes suggèrent que PERK augmente la signalisation du TGF β pour maintenir l'activation des HSC en présence de lésions hépatiques chroniques (Koo *et al.*, 2016).

Interventions pharmacologiques

Le lien important qui existe entre le stress du RE et la NAFLD suggère que des molécules permettant de cibler la voie UPR pourraient devenir une stratégie thérapeutique pour lutter contre le développement de la NAFLD. Certaines approches se sont révélées concluantes dans des modèles animaux, voire dans des études cliniques. En effet, il a été montré que le tauroursodésoxycholate (TUDCA) et le 4-phénylbutyrate (PBA), des chaperonnes chimiques qui permettent d'empêcher le mauvais repliement et l'agrégation des protéines, diminuent le stress du RE, améliorent la stéatose hépatique chez la souris et chez les personnes obèses (Ozcan *et al.*, 2006 ; Kars *et al.*, 2010).

Le TUDCA a également des effets anti-inflammatoires en diminuant la production de TNF α par les macrophages pro-inflammatoires (Nakagawa *et al.*, 2014) ainsi que l'expression du récepteur *Toll-Like Receptor 4* (TLR4). Il permet aussi de diminuer drastiquement l'activation de l'inflammasome NLRP3 ainsi que l'apoptose des hépatocytes, réduisant ainsi le développement de la NASH dans le foie de souris ob/ob stimulées avec du LPS ou de la tunicamycine (Lebeaupin *et al.*, 2015). Hormis ces molécules aux effets pléiotropes, des molécules ciblant spécifiquement les effecteurs de l'UPR ont été développées. Plusieurs composés pharmacologiques sont disponibles pour inhiber l'activité endonucléase d'IRE1 α comme le 4 μ 8c, le STF-083010, le MKC-3946. Le 4 μ 8c et le STF-083010 ont donné des résultats prometteurs dans le traitement de la NASH chez le rongeur (Lebeaupin *et al.*, 2018a, 2018b).

Des composés inhibiteurs de l'activité kinase d'IRE1 α sont également disponibles (Sunitinib, APY29) mais n'ont pas été testés dans la NASH. Des inhibiteurs de PERK ont été développés comme le GSK-265157 qui fonctionne en empêchant la fixation de l'ATP. Ce composé a donné des résultats encourageants dans des modèles murins de

cancer hépatique mais n'a pas été testé dans la NASH. De par son mécanisme d'activation, les approches pour inhiber ATF6 sont plus difficiles à mettre en œuvre. Toutefois, de petites molécules appelées céapines, permettant de piéger la protéine dans le RE et donc empêchant son activation, ont été identifiées mais pas encore testées dans des modèles de NASH (Gallagher *et al.*, 2016).

Conclusion

Dans cette revue, nous avons essayé de montrer comment la signalisation de l'UPR modifie la physiologie et la physiopathologie hépatique en réponse à l'environnement. Nous avons vu que le passage d'une voie UPR adaptative à une voie UPR chronique s'accompagne d'une aggravation de la maladie au cours de la NAFLD. Plusieurs interventions pharmacologiques permettant de réduire globalement le stress du RE ou ciblant spécifiquement les différents acteurs sont actuellement en cours d'étude dans des modèles précliniques. Il reste à savoir si ces approches seront efficaces dans le traitement des maladies hépatiques chez l'homme puisque, à l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement efficace contre la NASH.

Références

- Almanza, A., Carlesso, A., Chintha, C., Creedican, S., Doultinos, D., Leuzzi, B., Luís, A., McCarthy, N., Montibeller, L., More, S., Papaioannou, A., Püschel, F., Sassano, M.L., Skoko, J., Agostinis, P., de Bellerocche, J., Eriksson, L.A., Fulda, S., Gorman, A.M., Kozlov, A., Muñoz-Pinedo, C., Rehm, M., Chevet, E., Samali, A. (2019). Endoplasmic reticulum stress signalling – from basic mechanisms to clinical applications. *FEBS J*, 286, 241-278.
- Arruda, A.P., Pers, B.M., Parlakgöl, G., Güney, E., Inouye, K., Hotamisligil, G.S. (2014). Chronic enrichment of hepatic endoplasmic reticulum-mitochondria contact leads to mitochondrial dysfunction in obesity. *Nat Med*, 20, 1427-1435.
- Baiceanu, A., Mesdom, P., Lagouge, M., Foufelle, F. (2016). Endoplasmic reticulum proteostasis in hepatic steatosis. *Nat Rev Endocrinol*, 12, 710-722.
- Bobrovnikova-Marjon, E., Hatzivassiliou, G., Grigoriadou, C., Romero, M., Cavener, D.R., Thompson, C.B., Diehl, J.A. (2008). PERK-dependent regulation of lipogenesis during mouse mammary gland development and adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 16314-16319.
- Boden, G., Song, W., Duan, X., Cheung, P., Kresge, K., Barrero, C., Merali, S. (2011). Infusion of glucose and lipids at physiological rates causes acute endoplasmic reticulum stress in rat liver. *Obesity*, 19, 1366-1373.
- Boden, G., Cheung, P., Salehi, S., Homko, C., Loveland-Jones, C., Jayarajan, S., Stein, P.T., Williams, K.J., Liu, M.L., Barrero, C.A., Merali, S. (2014). Insulin regulates the unfolded protein response in human adipose tissue. *Diabetes*, 63, 912-922.
- Donnelly, K.L., Smith, C.I., Schwarzenberg, S.J., Jessurun, J., Boldt, M.D., Parks, E.J. (2005). Sources of fatty acids stored in liver and secreted *via* lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*, 115, 1343-1351.

- Fu, S., Yang, L., Li, P., Hofmann, O., Dicker, L., Hide, W., Lin, X., Watkins, S.M., Ivanov, A.R., Hotamisligil, G.S. (2011). Aberrant lipid metabolism disrupts calcium homeostasis causing liver endoplasmic reticulum stress in obesity. *Nature*, 473, 528-531.
- Gallagher, C.M., Garri, C., Cain, E.L., Kean-Hooi Ang, K., Wilson, C.G., Chen, S., Hearn, B.R., Jaishankar, P., Aranda-Diaz, A., Arkin, M.R., Renslo, A.R., Walter, P. (2016). Ceapins are a new class of unfolded protein response inhibitors, selectively targeting the ATF6 α branch. *eLife*, 5, e11878.
- Gregor, M.F., Yang, L., Fabbrini, E., Mohammed, S.B., Eagon, J.S., Hotamisligil, G.S., Klein, S. (2009). Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes*, 58, 693-700.
- Heindryckx, F., Binet, F., Ponticos, M., Rombouts, K., Lau, J., Kreuger, J., Gerwins, P. (2016). Endoplasmic reticulum stress enhances fibrosis through IRE1 α -mediated degradation of MiR-150 and XBP-1 splicing. *EMBO Mol Med*, 8, 729-744.
- Hernández-Gea, V., Hilscher, M., Rozenfeld, R., Lim, M.P., Nieto, N., Werner, S., Devi, L.A., Friedman, S.L. (2013). Endoplasmic reticulum stress induces fibrogenic activity in hepatic stellate cells through autophagy. *J Hepatol*, 59, 98-104.
- Hetz, C., Chevet, E., Oakes, S.A. (2015). Proteostasis control by the unfolded protein response. *Nat Cell Biol*, 17, 829-838.
- Hur, K.Y., So, J.S., Ruda, V., Frank-Kamenetsky, M., Fitzgerald, K., Koteliensky, V., Iwawaki, T., Glimcher, L. H., Lee, A.H. (2012). IRE1 α activation protects mice against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *J Exp Med*, 209, 307-318.
- Kammoun, H.L., Chabanon, H., Hainault, I., Luquet, S., Magnan, C., Koike, T., Ferré, P., Foufelle, F. (2009). GRP78 expression inhibits insulin and ER stress-induced SREBP-1c activation and reduces hepatic steatosis in mice. *J Clin Invest*, 119, 1201-1215.
- Kars, M., Yang, L., Gregor, M.F., Mohammed, B.S., Pietka, T. A., Finck, B.N., Patterson, B.W., Horton, J.D., Mittendorfer, B., Hotamisligil, G.S., Klein, S. (2010). Tauroursodeoxycholic acid may improve liver and muscle but not adipose tissue insulin sensitivity in obese men and women. *Diabetes*, 59, 1899-1905.
- Koo, J.H., Lee, H.J., Kim, W., Kim, S.G. (2016). Endoplasmic reticulum stress in hepatic stellate cells promotes liver fibrosis via PERK-mediated degradation of HNRNPA1 and up-regulation of SMAD2. *Gastroenterology*, 150, 181-193.e8.
- Lake, A.D., Novak, P., Hardwick, R.N., Flores-Keown, B., Zhao, F., Klimecki, W.T., Cherrington, N.J. (2014). The adaptive endoplasmic reticulum stress response to lipotoxicity in progressive human non-alcoholic fatty liver disease. *Toxicol Sci*, 137, 26-35.
- Lebeauapin, C., Proics, E., de Bieville, C.H., Rousseau, D., Bonnafous, S., Patouraux, S., Adam, G., Lavallard, V.J., Rovere, C., Le Thuc, O., Saint-Paul, M.C., Anty, R., Schneck, A.S., Iannelli, A., Gugenheim, J., Tran, A., Gual, P., Bailly-Maitre, B. (2015). ER stress induces NLRP3 inflammasome activation and hepatocyte death. *Cell Death Dis*, 6, e1879.
- Lebeauapin, C., Vallée, D., Rousseau, D., Patouraux, S., Bonnafous, S., Adam, G., Luciano, F., Luci, C., Anty, R., Iannelli, A., Marchetti, S., Kroemer, G., Lacas-Gervais, S., Tran, A., Gual, P., Bailly-Maitre, B. (2018a). Bax inhibitor-1 protects from nonalcoholic steatohepatitis by limiting inositol-requiring enzyme 1 alpha signaling in mice. *Hepatology*, 68, 515-532.
- Lebeauapin, C., Vallée, D., Hazari, Y., Hetz, C., Chevet, E., Bailly-Maitre, B. (2018b). Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 69, 927-947.
- Lee, A.H., Scapa, E.F., Cohen, D.E., Glimcher, L.H. (2008). Regulation of hepatic lipogenesis by the transcription factor XBP1. *Science*, 320, 1492-1496.
- Lerner, A.G., Upton, J.P., Praveen, P.V., Ghosh, R., Nakagawa, Y., Igbaria, A., Shen, S., Nguyen, V., Backes, B.J., Heiman, M., Heintz, N., Greengard, P., Hui, S., Tang, Q., Trusina, A., Oakes, S.A., Papa, F.R. (2012). IRE1 α induces thioredoxin-interacting protein to activate the NLRP3 inflammasome and promote programmed cell death under irremediable ER stress. *Cell Metab*, 16, 250-264.
- Maiers, J.L., Malhi, H. (2019). Endoplasmic reticulum stress in metabolic liver diseases and hepatic fibrosis. *Semin Liver Dis*, 39, 235-248.
- Maris, M., Overbergh, L., Gysemans, C., Waget, A., Cardozo, A. K., Verdrengh, E., Cunha, J.P.M., Gotoh, T., Cnop, M., Eizirik, D.L., Burcelin, R., Mathieu, C. (2012). Deletion of C/EBP homologous protein (*Chop*) in C57Bl/6 mice dissociates obesity from insulin resistance. *Diabetologia*, 55, 1167-1178.
- Mridha, A.R., Wree, A., Robertson, A.A.B., Yeh, M.M., Johnson, C.D., Van Rooyen, D.M., Haczeyni, F., Teoh, N. C.-H., Savard, C., Ioannou, G.N., Masters, S.L., Schroder, K., Cooper, M.A., Feldstein, A.E., Farrell, G.C. (2017). NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice. *J Hepatol*, 66, 1037-1046.
- Nakagawa, H., Umemura, A., Taniguchi, K., Font-Burgada, J., Dhar, D., Ogata, H., Zhong, Z., Valasek, M.A., Seki, E., Hidalgo, J., Koike, K., Kaufman, R.J., Karin, M. (2014). ER stress cooperates with hypernutrition to trigger TNF-dependent spontaneous HCC development. *Cancer Cell*, 26, 331-343.
- Ning, J., Hong, T., Ward, A., Pi, J., Liu, Z., Liu, H.Y., Cao, W. (2011). Constitutive role for IRE1 α -XBP1 signaling pathway in the insulin-mediated hepatic lipogenic program. *Endocrinology*, 152, 2247-2255.
- Ota, T., Gayet, C., Ginsberg, H.N. (2008). Inhibition of apolipoprotein B100 secretion by lipid-induced hepatic endoplasmic reticulum stress in rodents. *J Clin Invest*, 118, 316-332.
- Oyadomari, S., Harding, H.P., Zhang, Y., Oyadomari, M., Ron, D. (2008). Dephosphorylation of translation initiation factor 2 α enhances glucose tolerance and attenuates hepatosteatosis in mice. *Cell Metab*, 7, 520-532.
- Ozcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, A.H., Iwakoshi, N.N., Ozdelen, E., Tuncman, G., Görgün, C., Glimcher, L.H., Hotamisligil, G.S. (2004). Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*, 306, 457-461.
- Ozcan, U., Yilmaz, E., Ozcan, L., Furuhashi, M., Vaillancourt, E., Smith, R.O., Görgün, C.Z., Hotamisligil, G.S. (2006). Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. *Science*, 313, 1137-1140.
- Qiu, W., Avramoglu, R.K., Rutledge, A.C., Tsai, J., Adeli, K. (2006). Mechanisms of glucosamine-induced suppression of the hepatic assembly and secretion of apolipoprotein B-100-containing lipoproteins. *J Lipid Res*, 47, 1749-1761.
- Satapati, S., Sunny, N.E., Kucejova, B., Fu, X., He, T.T., Méndez-Lucas, A., Shelton, J.M., Perales, J.C., Browning, J. D., Burgess, S.C. (2012). Elevated TCA cycle function in the pathology of diet-induced hepatic insulin resistance and fatty liver. *J Lipid Res*, 53, 1080-1092.

- Volmer, R., Van der Ploeg, K., Ron, D. (2013). Membrane lipid saturation activates endoplasmic reticulum unfolded protein response transducers through their transmembrane domains. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110, 4628-4633.
- Wei, Y., Wang, D., Topczewski, F., Pagliassotti, M.J. (2006). Saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum stress and apoptosis independently of ceramide in liver cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 291, E275-E281.
- Wree, A., Eguchi, A., McGeough, M.D., Pena, C.A., Johnson, C. D., Canbay, A., Hoffman, H.M., Feldstein, A.E. (2014). NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice. *Hepatology*, 59, 898-910.
- Xiao, G., Zhang, T., Yu, S., Lee, S., Calabuig-Navarro, V., Yamauchi, J., Ringquist, S., Dong, H.H. (2013). ATF4 protein deficiency protects against high fructose-induced hypertriglyceridemia in mice. *J Biol Chem*, 288, 25350-25361.
- Younossi, Z., Anstee, Q.M., Marietti, M., Hardy, T., Henry, L., Eslam, M., George, J., Bugianesi, E. (2018). Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 15, 11-20.
- Zhang, K., Shen, X., Wu, J., Sakaki, K., Saunders, T., Rutkowski, D.T., Back, S.H., Kaufman, R.J. (2006). Endoplasmic reticulum stress activates cleavage of CREBH to induce a systemic inflammatory response. *Cell*, 124, 587-599.

Citation de l'article : Lachkar, F., Papaioannou, A., Ferré, P., et Foufelle, F. (2020). Stress du réticulum endoplasmique et stéatopathies métaboliques. *Biologie Aujourd'hui*, **214**, 15-23