

Signatures moléculaires de la stéatohépatite métabolique : identification de marqueurs et de cibles thérapeutiques

Avancées principales du travail de recherche

Prix Spécial du Jury SFD 2014 (20 000 euros)

Vanessa Legry, UMR 1011 Inserm – Université de Lille – Institut Pasteur de Lille

La **stéatohépatite métabolique** (aussi appelée *non-alcoholic steatohepatitis* ou **NASH**) est une atteinte chronique du foie caractérisée par l'accumulation de lipides intra-hépatiques et une **souffrance hépatocellulaire** (nécro-inflammation) induisant une fibrose pouvant évoluer en cirrhose ou en hépatocarcinome. Cette maladie est en fait la manifestation hépatique du syndrome métabolique et **touche 70% des patients diabétiques de type 2**. En effet, l'accumulation de graisse dans le foie est directement liée à l'insulino-résistance : l'hyperinsulinisme favorise l'affluence d'acides gras provenant du tissu adipeux vers le foie ainsi que la lipogenèse, et réciproquement, la stéatose hépatique participe au déséquilibre glycémique en inhibant l'action de l'insuline sur le contrôle de la néoglucogenèse. La NASH est associée à une morbi-mortalité élevée, contribuant à l'augmentation du risque cardiovasculaire, et est en train de devenir la 1^{ère} indication pour transplantation hépatique. A ce jour, aucun traitement de la NASH n'est disponible. De plus, c'est une maladie asymptomatique dont le diagnostic ne peut se faire que par une biopsie hépatique.

Dans ce projet, notre but était d'étudier les signatures moléculaires de la NASH afin d'identifier des marqueurs et de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques. Pour cela nos objectifs étaient :

- 1) identifier des signatures moléculaires associées à la stéatohépatite métabolique par analyse transcriptomique
- 2) identifier des voies métaboliques et des marqueurs associés à la stéatohépatite grâce à une approche métabolomique
- 3) tester des cibles thérapeutiques dans des modèles pré-cliniques.

Nous avons **réalisé les analyses transcriptomiques sur des biopsies de foie provenant de patients obèses ayant (n=107) ou non (n=35) une NASH**. Ces analyses nous ont permis d'identifier des **altérations du métabolisme des acides biliaires**, notamment l'augmentation de CYP7A1, régulant l'étape limitante de la synthèse des acides biliaires, étant l'un des gènes les plus induits dans la NASH. De manière intéressante, ceci était associé à une diminution de l'expression des enzymes impliquées dans la conjugaison (BACS) et la détoxification (SULT2A1) des acides biliaires, ainsi qu'à une augmentation des transporteurs MRP4 et MRP5, marqueurs de cholestase (accumulation d'acides biliaires intra-hépatiques), permettant l'efflux systémique des acides biliaires. Ces résultats suggèrent donc une **accumulation intra-hépatique d'acides biliaires toxiques** (moins conjugués et moins sulfatés), pouvant participer à la souffrance hépatocellulaire et à la pathogenèse de la NASH.

Les acides biliaires sont produits par le foie, sécrétés dans la bile et participent à la digestion des graisses dans le tube digestif. Puis ils sont réabsorbés au niveau intestinal et rejoignent le foie via la veine porte, subissant ainsi un **cycle entéro-hépatique**. La majeure partie des acides biliaires est recapturée par le foie, cependant une faible quantité est mesurable dans le sang. Nous avons alors **réalisé l'extraction et le dosage des acides biliaires plasmatiques dans un sous-groupe de patients (30 non NASH versus 30 NASH) par spectrométrie de masse** qui permet d'obtenir le profil de plus de 20 espèces d'acides biliaires différentes. Ces

analyses n'ont pas révélé de différences nettes en termes d'acides biliaires plasmatiques entre les patients présentant une NASH ou non. Etant donné que la plupart des acides biliaires dans le sang est capturée par le foie, il est possible que ce soit au niveau intra-hépatique que les changements opèrent. C'est d'ailleurs l'objet de ma **demande de financement à la SFD soumise le 9 décembre 2016** : projet intitulé « **Analyse des acides biliaires intra-hépatiques de patients diabétiques présentant une stéatohépatite (NASH)** ».

Enfin, comme **PPAR α** régule le métabolisme des acides biliaires, que son expression est diminuée chez des patients NASH (Francque et al. Hepatology 2015) et qu'un agoniste de PPAR α /PPAR δ est en cours de développement dans le traitement de la NASH, nous avons évalué le rôle de PPAR α dans les altérations du métabolisme des acides biliaires dans la NASH. Dans un **modèle pré-clinique** (souris PPAR α KO nourries avec un régime déficient en méthionine et choline connu pour induire les lésions histologiques hépatiques similaires à celles observées chez l'homme), le développement de la NASH était également associé à une diminution des enzymes impliquées dans la conjugaison des acides biliaires et à une induction des transporteurs systémiques (marqueurs de cholestase). De plus, la restauration de l'expression de **PPAR α** dans ce modèle (par adénovirus) permet de reverser les lésions histologiques en association avec une augmentation des gènes impliqués dans la détoxification des acides biliaires. Ces résultats renforcent donc l'idée que la NASH ainsi que sa réversion sont associées à des modulations du métabolisme des acides biliaires.

Le financement de la SFD obtenu en 2014 a permis en partie l'avancement de ces travaux de recherche, notamment pour le dosage des acides biliaires plasmatiques. Des travaux complémentaires sont en cours et les résultats seront soumis dès que possible pour publication dans une revue scientifique internationale. Ces résultats ont été présentés lors du meeting annuel du consortium européen RESOLVE (FP7) qui a eu lieu à Hambourg (Allemagne) en mai 2016 et seront présentés en 2017 lors du 7^e *Diabetes and Research Metabolism Symposium* qui aura lieu à Dusseldorf (Allemagne).