

Titre « *Conséquences de l'inactivation du récepteur des glucocorticoïdes dans l'adipocyte : impact sur le développement des dépôts adipeux et l'homéostasie énergétique* ».

Contexte de l'étude

Les glucocorticoïdes (GC) et leurs analogues de synthèse font partie des médicaments les plus prescrits en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires et immunosuppressives (Fardet et al., *Rheumatology*, 2011). Cependant, à fortes doses, ils sont responsables de l'apparition d'un diabète et d'une prise de poids associée à une lipodystrophie, qui se caractérise par une hypertrophie du tissu adipeux viscéral au détriment du tissu adipeux sous-cutané. Les patients souffrant d'un syndrome de Cushing ou recevant un traitement chronique par les GC développent des symptômes associés au syndrome métabolique (observés le plus souvent dans l'obésité commune), suggérant un rôle important des GC dans le développement de l'obésité viscérale et de ses complications (Fox et al., *Circulation*, 2007).

Les GC exercent des actions pléiotropes sur la biologie des tissus adipeux. Ils favorisent l'adipogenèse et régulent le métabolisme des adipocytes matures (Hauner et al., *J Clin Invest* 1989; Campbell et al., *AJP cell Physiol* 2011). Selon le tissu adipeux considéré (profond ou superficiel), la dose et la durée d'exposition, les GC modulent de manière différentielle la lipogenèse et la lipolyse ainsi que les capacités sécrétoires des adipocytes (Paulmyer-Lacroix et al. *Med Sci* 2003; Peckett et al., *Metab* 2011; Lee et al., *AJP Endocrinol Metab* 2011). Enfin, dans un contexte physiopathologique d'obésité, les GC pourraient être associés à l'inflammation du tissu adipeux (Gabriely et al., *Diabetes* 2002). Un déterminant essentiel de l'action des GC est l'activation des récepteurs stéroïdiens cibles des GC : le récepteur des minéralocorticoïdes (MR) et le récepteur des glucocorticoïdes (GR). Ces relais moléculaires appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires. L'activation du GR par son ligand entraîne sa translocation vers le noyau où il module l'expression de gènes essentiels à la physiologie de l'adipocyte (Yu et al., *PLoS One* 2010; Lee et al., *BBA* 2013). Le MR exerce également un rôle important sur l'adipogenèse et la fonction endocrine de l'adipocyte (Hoppman et al., *J Endocrinol* 2010; Capio et al., *FASEB J* 2007). Enfin, le MR serait impliqué dans des effets pro-inflammatoires (Hirata et al., *Cardiovasc Res* 2009; Gio et al., *Circulation* 2008), tandis que le GR transmet des actions anti-inflammatoires (Patsouris et al., *J Biol Chem* 2009). Ainsi la contribution relative de ces deux récepteurs dans les effets des GC au niveau d'un même tissu dépendrait de leurs abondances relatives ainsi que des niveaux circulants de GC ou d'aldostérone, ligand préférentiel du MR au niveau rénal mais très vraisemblablement accessoire dans le tissu adipeux. Cependant, les actions biologiques relayées par le GR et le MR dans le tissu adipeux pourraient être différentes selon le contexte physiologique ou pathologique (Hoppman et al., *J Endocrinol* 2010; Kuhn et al., *AJP Endocrinol Metab*, 2013; Mueller et al., *Diabetes* 2016). En particulier, l'implication du GR dans les effets différentiels des GC sur l'expansion des tissus adipeux viscéral et sous-cutané ainsi que sur les fonctions métaboliques ou sécrétoire de ces tissus demeure peu documentée.

Données obtenues

Afin de déterminer le rôle du GR adipocytaire dans les effets différentiels de GC sur la biologie des tissus adipeux, nous avons généré un modèle murin d'inactivation du GR spécifiquement dans l'adipocyte (souris adipoGR-KO) en croisant des souris GR loxées (Tronche et al., *Nat Genet*, 1999) avec des souris transgéniques exprimant la recombinaison CRE sous le contrôle du promoteur du gène de l'adiponectine (spécifique de l'adipocyte mature) et inductible par le tamoxifène (Sassmann et al., *Genesis* 2010). Ces souris ont été traitées avec la corticostérone (30 mg/kg/jour) pendant 4 semaines.

Le traitement par la corticostérone (CORT) entraîne une prise de poids importante et comparable chez les souris sauvages et adipoGR-KO par rapport aux souris non traitées. De façon contre-intuitive, nos résultats indiquent que l'inactivation du GR adipocytaire entraîne une expansion des tissus adipeux chez les souris adipoGR-KO traitées CORT. De façon intéressante, ces souris ont une meilleure sensibilité à l'insuline et tolérance au glucose, et sécrètent moins d'insuline que leurs homologues témoins. En accord avec ces données, les tissus adipeux sous-cutané et viscéral des souris adipoGR-KO sont plus sensibles à une stimulation par l'insuline. En effet, suite à un pulse insulinique, nous observons une phosphorylation accrue de l'intermédiaire de la voie insulinique Akt, spécifiquement dans les deux tissus adipeux des souris adipoGR-KO, alors qu'elle demeure inchangée dans le foie et le muscle de ces animaux. La mesure du transport du glucose sur des explants de tissus adipeux sous-cutané et viscéral de souris adipoGR-KO montre également une augmentation du transport du glucose en réponse à

l'insuline. Ainsi malgré une expansion de l'adiposité, les tissus adipeux des souris adipoGR-KO traitées à la CORT sont plus sensibles aux effets de l'insuline et métaboliquement plus actifs.

L'invalidation du GR adipocytaire semble avoir des répercussions au niveau de l'homéostasie énergétique globale. En effet on observe une diminution importante des concentrations en triglycérides et en acides gras libres circulants chez les souris adipoGRKO traitées CORT ainsi qu'une baisse de l'accumulation en triglycérides au niveau hépatique. L'ensemble de ces données suggère que les tissus adipeux des souris adipoGR-KO plus actifs métaboliquement favoriseraient le captage des acides gras au niveau des dépôts adipeux tout en diminuant la libération des acides gras libres dans la circulation et leur accumulation ectopique dans les tissus insulino-sensibles tels que le foie. Nous réalisons actuellement des expériences de lipolyse *ex vivo* sur des explants de tissus adipeux sous-cutané et viscérale de souris adipoGR-KO ou témoins pour déterminer les concentrations en glycérol et acides gras libérés suite à l'activation de la voie beta-adrénergique et le degré d'inhibition de cette voie par l'insuline.

En parallèle, nous réalisons des études morphologiques des tissus adipeux de nos souris. En effet, l'expression du facteur VEGFa, impliqué dans l'angiogenèse, est fortement augmentée dans les tissus adipeux des souris adipoGR-KO par rapport aux souris témoins. Nous analysons actuellement la vascularisation (immunomarquages (anticorps anti-CD31)) sur des coupes des tissus adipeux sous-cutané et viscéral ainsi que l'hypoxie. Ces études compléteront ces acquis importants. Grâce au financement de la SFD-Johnson & Johnson Diabète, ce projet est actuellement mené par une étudiante en 2^{ème} année de thèse, Melle Héloïse Dalle et une ingénieure d'étude. Il sera soumis pour publication à l'été 2017. Ce travail a été récompensé à deux reprises lors des présentations orales à l'ICAN et la SFE (cf. ci-dessous).

Nous développons actuellement un nouvel axe d'étude sur nos animaux adipoGR-KO et témoins traités CORT. Comme évoqué précédemment, l'invalidation du GR adipocytaire améliore la fonction métabolique des tissus adipeux et impacte positivement le métabolisme énergétique global. Le tissu adipeux est un organe endocrine, qui sécrète un grand nombre de facteurs impliqués dans des effets locaux ou à distance capables d'interférer à leur tour avec la physiologie d'autres organes tels que le foie, le muscle squelettique ou encore le pancréas. En collaboration avec le groupe de Dr Bertrand Blondeau (qui s'intéresse au rôle des GC dans la physiologie et la pathologie des cellules bêta-pancréatiques et qui nous a récemment rejoint), nous formulons l'hypothèse que le GR adipocytaire pourrait jouer un rôle crucial dans la communication inter-organe, en modifiant l'expression et la sécrétion d'adipokines en réponse au traitement CORT. L'objectif de ce projet vise donc à identifier des adipokines impliquées dans un dialogue métabolique essentiel entre le tissu adipeux, le foie, le muscle et le pancréas endocrine. Nous mettrons en évidence ces interconnexions par une stratégie de transcriptomique croisée avec des analyses de sécrétome et déterminerons la pertinence des facteurs identifiés chez l'homme. Ce travail participera à la compréhension et l'identification de nouveaux facteurs adipocytaires par lesquels le GR en réponse aux glucocorticoïdes pourrait contribuer à la lipodystrophie et aux troubles métaboliques associés à un hypercorticisme iatrogène ou endogène. L'identification de nouvelles cibles adipocytaires contribuant au déséquilibre énergétique induit par les glucocorticoïdes, s'intègre dans une double stratégie physiopathologique et thérapeutique visant à limiter les effets métaboliques délétères de ces hormones.

Ce projet a récemment été déposé à la SFD pour une demande de financement.

Présentations orales du travail de recherche lors de congrès

- **ICAN Journée scientifique Juin 2016 à Paris** : "Role of adipocyte glucocorticoid receptor in corticosterone-induced lipodystrophy" Héloïse DALLE, Marie GARCIA, Tatiana LEDENT, Huong DO, Marion BUYSE, Raphaël DENIS, Serge LUQUET, Bruno FEVE, Marthe MOLDES. *Obtention d'un premier prix pour la présentation orale*

- **SFE (société française d'endocrinologie) Octobre 2016 à Bordeaux** : « Rôle du récepteur des glucocorticoïdes adipocytaire dans la lipodystrophie induite par la corticostérone » Héloïse Dalle, Marie-Pauline Garcia, Tatiana Ledent, Huong Do, Marion Buyse, Raphaël Denis, Serge Luquet, Bruno Fève, Marthe Moldes *Obtention d'un premier prix pour la présentation orale.*

- **Boot camp du CMDO network (Réseau de recherche en santé cardiométabolique, diabète et obésité) oral prévu en Février 2017 au Canada** : « Rôle du récepteur des glucocorticoïdes adipocytaire dans la lipodystrophie induite par la corticostérone » Héloïse Dalle, Marie-Pauline Garcia, Tatiana Ledent, Huong Do, Marion Buyse, Raphaël Denis, Serge Luquet, Bruno Fève, Marthe Moldes.