

PRIX MAURICE DÉROT 2002

1971-2002 : UNE HISTOIRE DU RÉCEPTEUR DE L'INSULINE

par

P. FREYCHET*

Je suis particulièrement honoré, et très heureux, de recevoir le Prix Maurice Dérot. D'abord, parce que ce Prix s'inscrit dans le cadre des Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, mon alma mater, l'origine véritable de mon intérêt pour le diabète et la recherche. J'ai eu la chance d'y être Interne puis Chef de Clinique à une époque où, sous l'impulsion de G. Rosselin et de G. Tchobroutsky, le dosage radio-immunologique des hormones polypeptidiques était en plein développement. À l'Hôtel-Dieu, j'ai aussi eu la chance de bénéficier de l'exemple de M. Legrain, et de travailler avec M. Rathery, R. Assan, G. Slama et nombre d'autres collègues ; je ne peux les citer tous, mais tous ont contribué à l'orientation de ma carrière. Honoré et heureux, ensuite et peut-être surtout, parce qu'il s'agit du Prix Maurice Dérot. La personnalité du Professeur Dérot avait de multiples facettes, dont deux me paraissent devoir être soulignées. Le Professeur Dérot avait perçu dès la fin des années cinquante l'importance de la recherche. Il avait su s'entourer de collaborateurs entreprenants et passionnés, leur procurant des moyens et du temps pour développer leur recherche, attitude peu commune dans ce pays et à cette époque. Mais le Professeur Dérot était aussi, et certains d'entre nous, ici, se souviennent surtout de cela, un homme de grande culture, un véritable humaniste qui aimait tous les aspects de la vie et qu'habitait notamment le sens de l'amitié. Héritage de Maurice Dérot, c'est cette combinaison subtile de médecine, de science et d'humanisme qui, sous la direction attentive de Gérard Slama, continue de présider à l'esprit des Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, depuis leur fondation en 1960 par le Professeur Dérot et le Professeur Bour.

L'interaction entre une molécule porteuse d'information, comme une hormone, et un site de reconnaissance, ou récepteur, à la surface cellulaire, représente habituellement la première étape d'une série d'événements qui conduisent à une réponse biologique. C'est en particulier le cas pour les hormones polypeptidiques comme l'insuline, les facteurs de croissance, les cytokines et les neuro-médiateurs.

* INSERM U145, Faculté de Médecine, Nice, France.

Ainsi, la première étape de l'action de l'insuline est la liaison de l'hormone à un récepteur sur la membrane plasmique des cellules cible [1, 2]. Cette liaison active, au sein même du récepteur, une enzyme (tyrosine kinase) qui, par l'intermédiaire d'un réseau complexe de signalisation, conduit aux différents effets biologiques de l'hormone [3, 4].

MISE EN ÉVIDENCE DES RÉCEPTEURS DE L'INSULINE

Les outils affinés du dosage radio-immunologique

La mise en évidence et la mesure de la liaison de l'insuline à son récepteur ont largement bénéficié de la méthodologie développée par Berson et Yalow pour le dosage des hormones polypeptidiques par radio-immunologie. L'insuline mono-iodée conserve à la fois l'affinité pour se lier à son récepteur [5] et l'activité biologique [6] de l'insuline native. À l'aide de cette préparation, en 1971, des sites de liaison spécifique de l'insuline ont été mis en évidence au niveau des membranes plasmiques de foie [1]. Le même type d'approche a été utilisé pour caractériser les récepteurs de l'insuline sur un grand nombre de préparations cellulaires et sub-cellulaires et sur les récepteurs solubilisés (revue *in* [7]).

Le récepteur : un élément de reconnaissance bio-spécifique de l'hormone

La propriété majeure et, par définition, la caractéristique obligatoire minimale d'un récepteur hormonal est sa spécificité pour l'hormone considérée. La spécificité biologique de la liaison de l'insuline a été amplement démontrée par la concordance entre, d'une part, la capacité de diverses insulines et analogues structuraux à inhiber la liaison de l'insuline radio-marquée et, d'autre part, leurs puissances biologiques respectives [1, 7]. Cette bio-spécificité est nettement différente de la spécificité antigénique mesurée par radio-immunologie. Celle-ci est capable de repérer au sein de la molécule d'insuline les substitutions d'acides aminés caractéristiques de chaque espèce mais, contrairement au récepteur, son aptitude à détecter les changements de conformation qui affectent la fonction biologique est médiocre.

Le récepteur : un outil d'intérêt pharmacologique

Les études menées sur les relations structure-activité de l'insuline à l'aide de son récepteur [7-9] ont révélé que toute modification importante de la conformation (structure tri-dimensionnelle) de la molécule provoque une diminution parallèle de la puissance biologique et de l'affinité pour le récepteur. Celles-ci peuvent toutefois être altérées en l'absence de modification notable de la conformation : c'est le cas de la pro-insuline et des dérivés comportant un pont intra-moléculaire covalent entre Gly A1 et Lys B29 [10]. Tandis que l'affinité plus faible de la pro-insuline s'explique par une association plus lente au récepteur [11], peut-être due à la présence du peptide de connexion, l'affinité plus forte de l'insuline de poulet résulte d'une plus grande stabilité du complexe hormone-récepteur [12].

Les résidus terminaux de la chaîne A (Gly A1 et Asn A21), de même que l'octapeptide C-terminal de la chaîne B (B23-B30 et plus particulièrement Gly23, Phe24 et Phe25), sont essentiels au maintien de la conformation de la molécule d'insuline [8, 9] et à la préservation de l'affinité pour le récepteur et de l'activité biologique (tableau I). Ces résidus, pour la plupart invariants, participent à la constitution d'une région qui, située à la surface de la molécule, est impliquée dans la liaison au récepteur (fig. 1). Il est intéressant d'observer que les trois résidus C-terminaux de la chaîne B (Pro28, Lys29 et Ala30) sont situés en dehors de cette région. De fait, l'activité biologique de l'insuline dépourvue de Ala30 est largement préservée (voir tableau I), et l'inversion de Pro28 et Lys29 par Lys28 et Pro29 (insuline lispro), si elle affecte la capacité de la molécule à former un dimère (ce qui accroît sa rapidité d'action), n'altère pas son activité biologique.

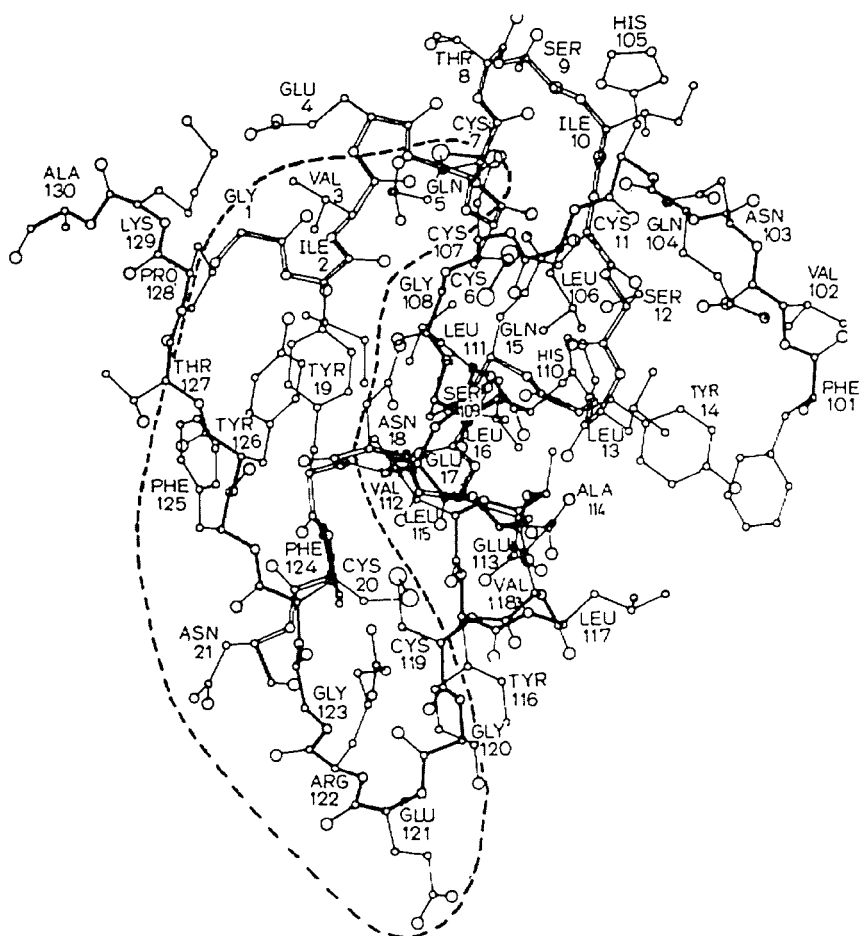


FIG. 1. — Structure atomique tri-dimensionnelle de la molécule d'insuline. La ligne discontinue entoure la région de la surface impliquée dans la liaison au récepteur et dans l'activité biologique. Les résidus de la chaîne A sont numérotés de 1 à 21, et ceux de la chaîne B, de 101 à 130 (reproduit avec permission de [8]).

TABLEAU I. — AFFINITÉ POUR LE RÉCEPTEUR ET PUISSANCE BIOLOGIQUE D'INSULINES MODIFIÉES PAR DÉLÉTIONS DANS LES RÉGIONS C- ET N-TERMINALES DE LA MOLÉCULE (LES RÉSULTATS SONT EXPRIMÉS EN POURCENTAGES DE L'AFFINITÉ POUR LE RÉCEPTEUR ET DE LA PUISSANCE BIOLOGIQUE DE L'INSULINE PORCINE INTACTE) (D'APRÈS [7])

RÉGION C-TERMINALE	AFFINITÉ POUR LE RÉCEPTEUR	PUISSANCE BIOLOGIQUE
DesAla B30	90	98
DesPentapeptide B26-B30	13,7	16,5
DesOctapeptide B23-B30	1,9	1,5
DesAla B30, DesAsn A21	1,7	1,4
RÉGION N-TERMINALE		
DesPhe B1	92	90
DesGly A1, DesPhe B1	0,4	2

DYNAMIQUE DU RÉCEPTEUR DE L'INSULINE

Les récepteurs hormonaux ne sont pas des éléments statiques. Leur nombre et leur affinité pour l'hormone fluctuent en fonction de leur environnement ; le récepteur de l'insuline ne fait pas exception [13].

La régulation du récepteur à la surface cellulaire : le récepteur n'est pas une structure statique

Une variation de l'affinité du récepteur pour l'insuline est l'une des modalités de modulation de l'intensité du signal hormonal. Avec la plupart des systèmes étudiés (membranes plasmiques, cellules isolées, récepteur solubilisé et purifié), les données de la liaison insuline-récepteur évoquent soit une hétérogénéité avec un site récepteur de haute affinité-basse capacité et un site de basse affinité-haute capacité [7, 13], soit une coopérativité négative, induite par l'insuline, entre les sites récepteurs d'une population homogène [14]. Transposées *in vivo*, les données observées (quelle qu'en soit l'interprétation) suggèrent que le récepteur peut se comporter comme un système tampon vis-à-vis de concentrations élevées d'insuline, tout en étant très sensible aux faibles concentrations de l'hormone. Les auto-anticorps anti-récepteur de l'insuline, présents dans le sérum de patients atteints d'une forme rare d'insulino-résistance extrême, altèrent l'affinité du récepteur pour l'insuline tout en exerçant parfois des effets insulino-mimétiques du fait de cette interaction avec le récepteur [15]. Une altération de l'affinité du récepteur peut être la conséquence de très rares mutations du gène du récepteur [16]. L'épissage alternatif du transcrit du gène conduit à deux isoformes du récepteur qui diffèrent par leur affinité pour l'insuline et qui, en proportion variable selon les tissus cible, peuvent expliquer des différences de sensibilité à l'hormone [17]. L'environnement physico-chimique peut également affecter l'affinité ; celle-ci est diminuée par une baisse du pH [13].

Cependant, c'est le nombre (ou la concentration) des récepteurs à la surface des cellules cible qui est la variable le plus souvent impliquée dans une modification

de la liaison insuline-récepteur [7, 13]. Le principal régulateur de cette variable est la concentration ambiante d'insuline. Il existe une relation inverse entre celle-ci et le nombre des récepteurs. Ainsi, une diminution du nombre des récepteurs de l'insuline est observée dans les situations d'hyperinsulinémie [18]. La correction de l'hyperinsulinémie s'accompagne d'un retour du nombre des récepteurs vers la normale [18-20]. À l'inverse, le nombre des récepteurs est accru dans les situations d'insulinopénie [21, 22]. La régulation du nombre des récepteurs à la surface cellulaire est donc, le plus souvent, secondaire aux fluctuations de l'insulinémie. Dans une certaine mesure, elle peut apparaître comme un phénomène adaptatif destiné à atténuer les conséquences d'un excès d'insuline et, à l'inverse, à accroître la sensibilité à l'hormone dans les situations d'insulinopénie. Les implications physio-pathologiques de cette régulation négative, par l'insuline, du nombre de ses récepteurs, sont discutées plus loin. Les altérations primitives du nombre des récepteurs à la suite de mutations du gène qui affectent la biosynthèse, la maturation et le transfert du récepteur à la surface cellulaire, sont beaucoup plus exceptionnelles [16]. Le principal mécanisme en jeu dans la régulation négative est une accélération par l'insuline de la dégradation de ses récepteurs ; cette dégradation affecte de manière égale les deux sous-unités constitutives du récepteur, la sous-unité α qui comporte le domaine de liaison à l'hormone et la sous-unité β qui possède l'activité enzymatique [23].

Le cycle cellulaire du récepteur : un processus d'internalisation-recyclage

Après leur formation à la surface cellulaire, les complexes insuline-récepteur se concentrent dans des invaginations de la membrane plasmique, puis sont transférés à l'intérieur de la cellule par endocytose. Ils sont ensuite transportés au niveau des endosomes (formations pré-lysosomales), au sein desquels un pH acide facilite la dissociation du complexe hormone-récepteur. Cette dissociation pré-lysosomale permet à une partie des récepteurs restés intacts d'être recyclés vers la surface cellulaire. L'insuline, par contre, est transportée jusqu'aux lysosomes, où elle est dégradée (fig. 2). Il en va de même des récepteurs non recyclés vers la membrane plasmique [24-27].

Le nombre des récepteurs à la surface cellulaire dépend donc non seulement de leur synthèse de novo mais également de la proportion des récepteurs recyclés vers la membrane plasmique. Le transfert intra-cellulaire du complexe hormone-récepteur, en permettant la dégradation lysosomale de l'insuline, représente une modalité de terminaison du signal hormonal. C'est aussi un moyen de moduler le nombre des récepteurs disponibles à la surface cellulaire. Dans une certaine mesure, cette « internalisation » du complexe hormone-récepteur peut représenter l'un des mécanismes par lesquels la cellule module le nombre de ses récepteurs de surface en fonction de la concentration ambiante d'insuline. Dans les situations insulinopéniques, le taux d'internalisation est réduit, et l'insulinothérapie le ramène à la normale [28]. Cependant, la réciproque n'est pas vérifiée : l'internalisation n'est pas accrue, mais plutôt diminuée, dans les situations d'hyperinsulinémie [24]. La régulation négative, par l'insuline, du nombre de ses récepteurs, et le processus d'internalisation-recyclage des complexes hormone-récepteur, apparaissent ainsi être, dans une certaine mesure, indépendants l'un de l'autre. La fonction enzymatique (tyrosine kinase) du récepteur reste active après son internalisation ; cela suggère que certains effets biologiques de l'insuline pourraient impliquer le transfert intra-cellulaire du

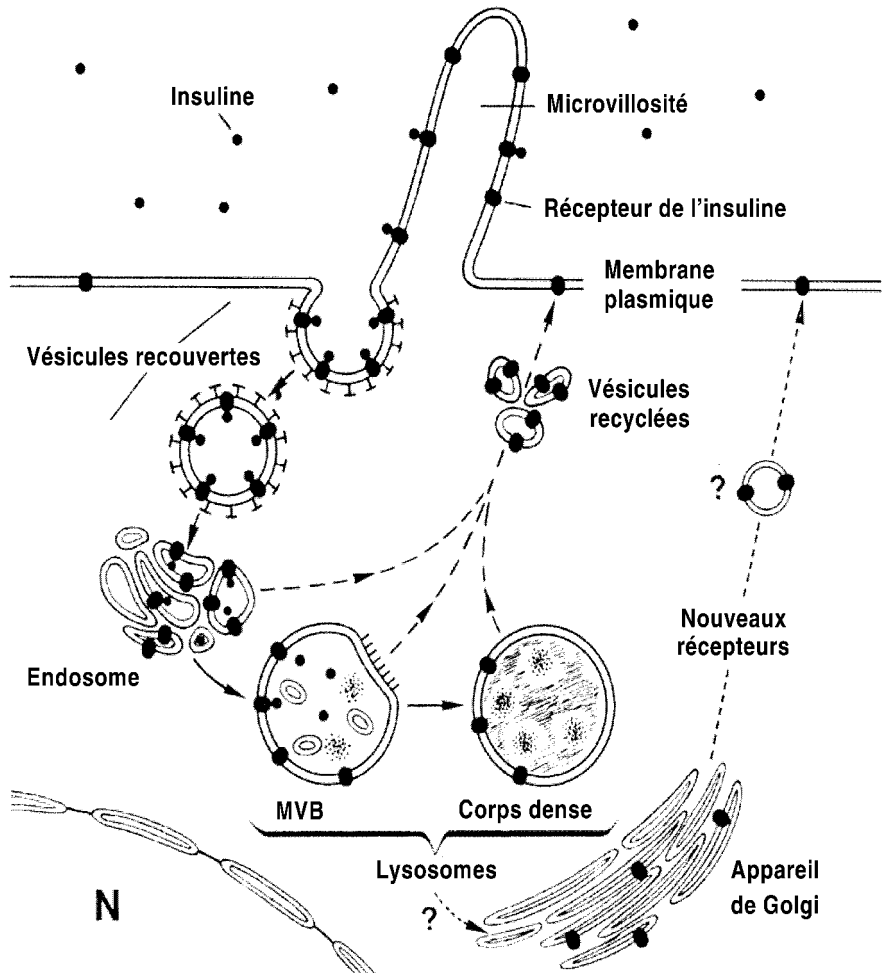


FIG. 2. — Représentation schématique de l'internalisation de l'insuline après sa liaison au récepteur sur la membrane plasmique, et du recyclage vers la surface cellulaire, à partir du compartiment endosomal/lysosomal, des récepteurs restés intacts. Mvb = *multivesicular body* (reproduit d'après [24]).

complexe hormone-récepteur [29]. Cependant, la plupart des données montrent que l'activation du réseau de signalisation est mise en jeu à partir du complexe insuline-récepteur à la surface cellulaire.

RÉCEPTEUR ET SENSIBILITÉ À L'INSULINE

Le caractère nécessaire de la présence du récepteur pour que l'insuline puisse agir est démontré de façon caricaturale par l'invalidation homozygote du gène du récepteur de l'insuline chez la souris, qui entraîne un diabète néonatal rapidement fatal par acidocétose [30]. Cependant, en dehors de cette situation extrême, et hor-

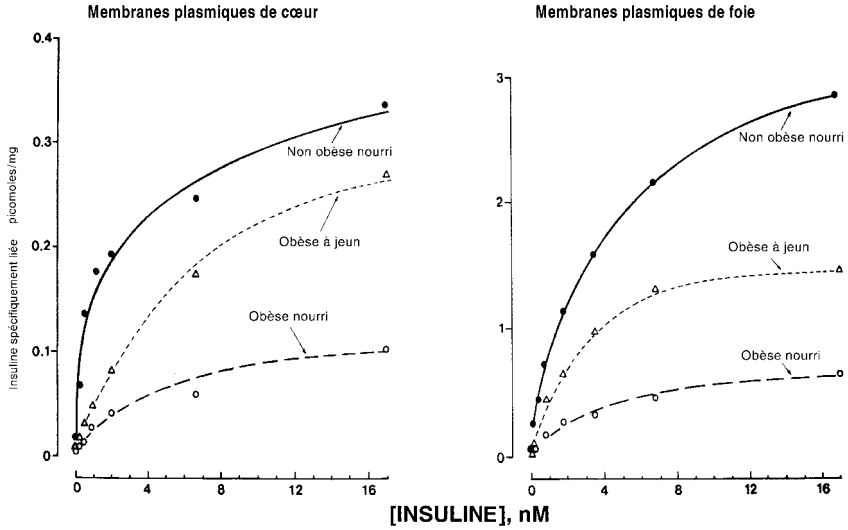


FIG. 3. — Liaison de l'insuline aux membranes plasmiques myocardiques et hépatiques de souris obèses et de souris témoins non obèses. Effet d'un jeûne de 44 heures sur la liaison de l'insuline aux membranes de souris obèses (reproduit d'après [19]).

mis les très rares cas de mutations du gène du récepteur responsables d'insulino-résistance sévère [16], c'est une fluctuation du nombre des récepteurs qui est le plus souvent observée en pathologie expérimentale ou humaine.

La diminution du nombre des récepteurs de l'insuline dans des modèles d'obésité : une altération réversible

Deux modèles animaux d'obésité avec insulino-résistance ont été plus particulièrement explorés pour voir dans quelle mesure une anomalie de la liaison de l'insuline à son récepteur pouvait être impliquée dans la résistance des tissus cible à l'action de l'hormone. Dans un modèle génétique d'obésité (souris *ob/ob*) et dans un modèle expérimental d'obésité (souris rendue obèse par l'aurothiogluucose), une diminution du nombre des récepteurs a été mise en évidence au niveau du tissu adipeux [20, 31], du foie [19, 20], du muscle strié squelettique [18] et du muscle cardiaque [19, 20]. La diminution du nombre des récepteurs de l'insuline dans ces deux situations est largement réversible. Chez les souris obèses, la diminution de l'hyperinsulinémie par le jeûne [19, 20] ou par la streptozotocine [20] s'accompagne d'un retour du nombre des récepteurs vers la normale (fig. 3), d'autant plus marqué que la réduction de l'hyperinsulinémie a été plus accentuée [20]. Cette modulation s'accorde avec la régulation négative, par l'insuline, du nombre de ses récepteurs, évoquée plus haut.

La conséquence principale d'une diminution du nombre des récepteurs : une diminution de la sensibilité à l'insuline

Dans la plupart des situations (obésité, diabète de type 2), la diminution du nombre des récepteurs ne suffit pas à expliquer à elle seule l'insulino-résistance. La

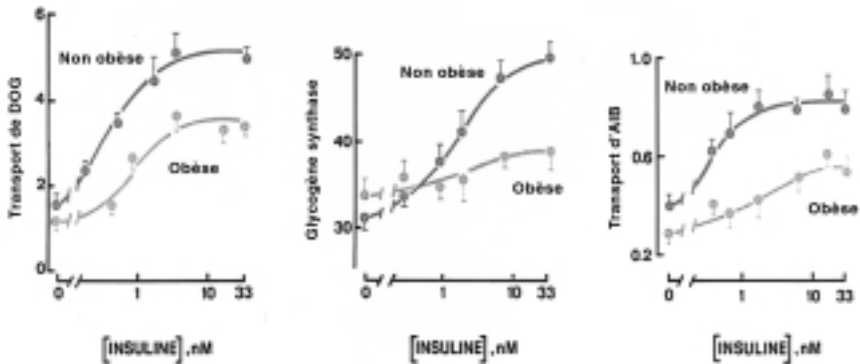


FIG. 4. — Relations dose-effets de l'insuline sur, de gauche à droite, le transport du glucose, l'activité de la glycogène synthase, et le transport des acides aminés, au niveau du muscle squelettique (soleus isolé) de souris obèses et de souris témoins non obèses. DOG = déoxyglucose ; AIB = acide α -amino-isobutyrique (adapté d'après [33]).

comparaison des relations dose-effet pour la liaison de l'insuline à son récepteur et pour différentes réponses biologiques à l'hormone, révèle le plus souvent qu'un effet biologique maximal peut être obtenu alors qu'une partie seulement des récepteurs est occupée par l'hormone [18], les récepteurs restés libres étant considérés comme de « réserve ». Dans un tissu cible qui comporte des récepteurs de réserve, la conséquence fonctionnelle d'une diminution du nombre des récepteurs est un déplacement vers la droite de la courbe dose-réponse biologique [7, 13, 18], c'est-à-dire une diminution de la sensibilité à l'hormone, mais sans diminution de la réponse maximale. Une altération de la réponse maximale implique l'existence d'une anomalie de nature limitante pour l'action de l'hormone, située en aval de la liaison de l'insuline au récepteur dans le réseau de signalisation, ou même indépendante de celui-ci comme, par exemple, une anomalie intrinsèque du système de transport du glucose. Une anomalie combinée, au niveau récepteur et post-récepteur, peut ainsi engendrer à la fois une diminution de la sensibilité et une diminution de la réponse maximale [32]. C'est ce dernier cas de figure que révèlent les relations dose-effets biologiques de l'insuline au niveau du muscle squelettique (fig. 4) dans l'obésité [18, 33]. Cependant, la proportion des récepteurs de réserve varie avec le tissu cible et le type d'effet biologique : ainsi, aux deux extrêmes, l'effet anti-lipolytique de l'insuline est observé pour une occupation minimale des récepteurs sur l'adipocyte, alors que la stimulation par l'insuline du transport des acides aminés au niveau de l'hépatocyte est directement proportionnelle à l'occupation des récepteurs par l'hormone [34]. Le caractère plus ou moins limitant et une amplification de degré variable des différentes étapes de l'action de l'hormone sous-tendent probablement ces différences, qui expliquent aussi qu'une diminution du nombre des récepteurs puisse ne pas avoir les mêmes conséquences sur tous les effets de l'insuline, ni au niveau de tous les tissus.

L'insulino-résistance : principalement des altérations post-liaison et post-récepteur

Ainsi, si la diminution du nombre des récepteurs est à tout le moins responsable d'une diminution de la sensibilité à l'insuline, elle ne peut à elle seule expliquer,

qualitativement et quantitativement, tous les aspects de l'insulino-résistance. Celle-ci est engendrée, pour une large part, par des altérations situées en aval de la liaison de l'insuline à son récepteur.

Au niveau même du récepteur, un défaut d'activation par l'insuline de la tyrosine kinase, point de départ du processus de signalisation, a été mis en évidence au niveau du muscle squelettique de souris obèse. Cette altération apparaît être indépendante de la diminution du nombre des récepteurs [35]. Il s'agit donc là d'une anomalie post-liaison, mais encore intra-récepteur, dont la constatation a été étendue au tissu adipeux dans divers modèles d'obésité, ainsi qu'à l'obésité et au diabète de type 2 chez l'homme (revue *in* [36]).

Concernant le réseau de signalisation post-récepteur (abordé plus loin dans cet article), plusieurs sites d'altération ont été mis en évidence au cours des dix dernières années au niveau du muscle squelettique et du tissu adipeux dans des modèles animaux d'insulino-résistance, et dans l'obésité et le diabète de type 2 chez l'homme [36]. Il s'agit, immédiatement en aval du récepteur, d'une diminution de l'expression et d'un défaut de phosphorylation sur tyrosine du « substrat 1 du récepteur de l'insuline » (*Insulin Receptor Substrate 1*, IRS-1), après activation du récepteur par l'hormone [37] ; d'une activation défectueuse de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) par l'insuline [38, 39] ; et, plus en aval, d'un défaut d'activation de la sérine/thréonine kinase Akt (ou protéine kinase B, PKB) par l'insuline [40]. Ainsi, au niveau du muscle squelettique de souris obèse, on observe une moindre activation de la tyrosine kinase du récepteur par l'insuline et, plus accentué encore, un défaut d'activation de la PI3-kinase (fig. 5). Ces altérations sont corrigées par le jeûne (fig. 5), comme le sont la diminution du nombre des récepteurs et des effets de l'insuline [18].

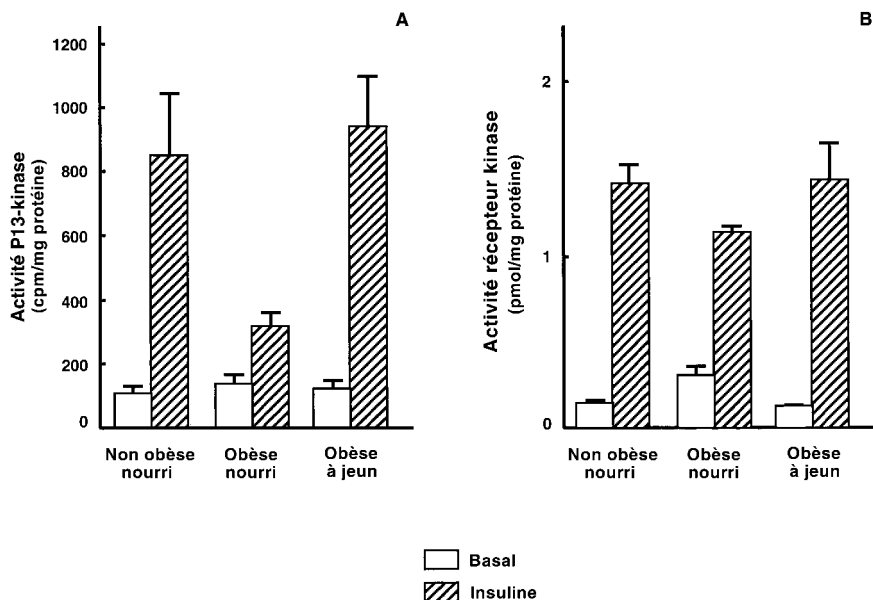


FIG. 5. — Effets de l'insuline sur l'activité de la PI3-kinase (A) et de la tyrosine kinase du récepteur (B) du muscle squelettique (soleus isolé) de souris obèses et de souris témoins non obèses. Effet d'un jeûne de 48 heures chez les souris obèses (adapté d'après Heydrick et al., *J Clin Invest*, 1993, 91 : 1358-1366).

L'hyperinsulinémie n'affecte pas seulement le nombre des récepteurs. Elle est également impliquée dans la résistance à l'hormone au niveau de sites post-récepteur de son action [39]. Par exemple, dans un modèle *in vitro* d'insulino-résistance (adipocytes 3T3-L1 exposés de façon prolongée à une concentration élevée d'insuline), l'expression de l'IRS-1 et sa phosphorylation sur tyrosine induite par l'insuline sont diminuées [39, 41]. Ces altérations s'accompagnent d'une diminution de l'activation par l'insuline de la PI3-kinase et des protéine kinases activées par des agents mitogéniques (*Mitogen-Activated Protein kinases*, MAP-kinases). La PI3-kinase est impliquée dans ces altérations [39, 41], ce qui suggère une boucle de régulation négative de l'action de l'insuline, par l'hormone elle-même, au sein de son réseau de signalisation. Ces aspects sont repris plus loin.

L'hyperinsulinémie n'est pas le seul déterminant de ces altérations. L'hyperglycémie elle-même diminue à la fois la sécrétion d'insuline et la sensibilité à l'hormone (« glucotoxicité »). Ainsi, la glucosamine, métabolite du glucose dans la voie des hexosamines, diminue la stimulation du transport du glucose par l'insuline dans le muscle, et l'activation de la PI3-kinase par l'hormone [42]. La « lipotoxicité » est également impliquée dans l'insulino-résistance à un stade post-récepteur. Ainsi, l'accumulation de lipides dans les cellules musculaires s'accompagne d'une diminution de la stimulation par l'insuline de la captation du glucose et de l'antilipolyse, et d'une diminution de l'activation par l'hormone de la PI-3 kinase [43].

Les altérations au niveau récepteur et post-récepteur : des processus évolutifs

La constitution de l'insulino-résistance dans l'obésité s'effectue de façon progressive et différenciée selon les tissus cible et le type d'effet biologique. Pendant la première phase, dynamique, de prise pondérale la lipogenèse dans le tissu adipeux est sensible à l'insuline, alors que dans le muscle squelettique le transport du glucose et la synthèse du glycogène (mais non l'oxydation du glucose ni la glycolyse) sont déjà résistants à l'hormone [38]. À la phase statique, plus tardive, de l'obésité constituée l'insulino-résistance est généralisée. Des disparités existent aussi au niveau du réseau de signalisation. À la phase précoce de l'obésité, l'activité kinasique du récepteur est peu altérée dans le muscle et même exagérément sensible à l'insuline dans l'adipocyte [44], tandis que l'activation de la PI3-kinase par l'insuline est déjà altérée, du fait d'un défaut de phosphorylation sur tyrosine de l'IRS-1 [36, 38] qui apparaît précocement dans le développement de l'insulino-résistance.

MÉCANISME D'ACTION DE L'INSULINE

Structure et fonction du récepteur : une enzyme allostérique

Le récepteur de l'insuline est un hétérotétramère, composé de deux sous-unités α extra-cellulaires qui contiennent le domaine de liaison à l'insuline, et de deux sous-unités β trans-membranaires qui possèdent une activité enzymatique tyrosine kinase [3, 4, 36, 45]. Si 1971 a été l'année de la « découverte » des récepteurs de

l'insuline, 1982 a vu une avancée majeure pour la compréhension du mécanisme d'action de l'hormone : l'insuline induit la phosphorylation de son propre récepteur et, par l'intermédiaire d'un changement de conformation de celui-ci, active une tyrosine kinase au niveau de la sous-unité β [3, 4, 36, 45-49]. La sous-unité β est ainsi à la fois enzyme et substrat pour cette activité tyrosine kinase, également dirigée vers d'autres substrats cellulaires, principalement les IRS. Un récepteur non occupé par l'insuline peut aussi être phosphorylé et activé par un récepteur qui a lié l'hormone [3]. Ce processus de transphosphorylation/transactivation entre récepteurs de l'insuline représente un mécanisme potentiel d'amplification du signal à partir d'une occupation partielle des récepteurs par l'hormone. Il peut aussi se produire de façon hétérologue entre le récepteur de l'insuline et un récepteur de structure apparentée, celui du facteur de croissance « insulino-semblable-I » (*Insulin-Like Growth Factor-I*, IGF-I) [3]. Ce processus peut être impliqué, au moins pour une part, dans l'action de l'insuline sur la croissance cellulaire et expliquer le caractère pléiotropique des effets de l'insuline et des facteurs de croissance apparentés.

Deux voies principales au sein d'un réseau complexe de signalisation

La signalisation post-récepteur de l'insuline a longtemps été considérée comme une « boîte noire » peu informative. Cependant, les quinze dernières années ont vu l'identification de plusieurs voies de signalisation entre le récepteur de l'insuline et les effets biologiques de l'hormone. Des protéines en grand nombre sont impliquées dans cette signalisation, assez largement partagée par l'insuline, certains facteurs de croissance et certaines cytokines. Plutôt que des voies de signalisation indépendantes, il s'agit d'un réseau avec des connexions multiples [3, 4, 36, 39, 45, 46] (fig. 6). Après avoir été phosphorylés sur des résidus tyrosyl, les substrats IRS (au nombre de quatre, IRS-1, 2, 3, 4) acquièrent la capacité de se lier à différentes protéines contenant des domaines appelés SH2 (*Src homology 2*) en raison de leur homologie avec un domaine de l'oncoprotéine virale *Src*. La PI3-kinase est l'une de ces protéines. La liaison des IRS aux domaines SH2 de la sous-unité régulatrice de la PI3-kinase entraîne l'activation de la sous-unité catalytique de l'enzyme.

L'activation de la PI3-kinase est le point de départ d'une voie majeure de signalisation des effets biologiques de l'insuline (voir fig. 6). Cette voie conduit, par l'intermédiaire de la PKB/Akt ou celui d'autre(s) protéine kinase(s) plus en aval, à la plupart des effets métaboliques de l'hormone, notamment la stimulation du transport du glucose [39, 50], et à des régulations géniques telles que l'inhibition de la transcription du gène de la phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) qui participe à l'effet inhibiteur de l'insuline sur la néoglucogenèse [51], et l'inhibition de la glycogène synthase kinase 3 (GSK3) qui participe à l'effet stimulant de l'hormone sur la synthèse du glycogène [52]. L'activation de la PKB/Akt par la PI3-kinase s'effectue par l'intermédiaire de protéine kinases phosphoinositide-dépendantes, PDK1 et PDK2. La voie PI3-kinase (mais pas la PKB) est aussi mise en jeu dans l'activation par l'insuline de la phosphofructokinase 2 myocardique [53], enzyme intervenant dans la glycolyse. La voie PI3-kinase – PKB/Akt apparaît être également impliquée dans l'effet anti-apoptotique [54] des facteurs de croissance et, vraisemblablement, de l'insuline. La protéine kinase p70^{sk}, autre effec-

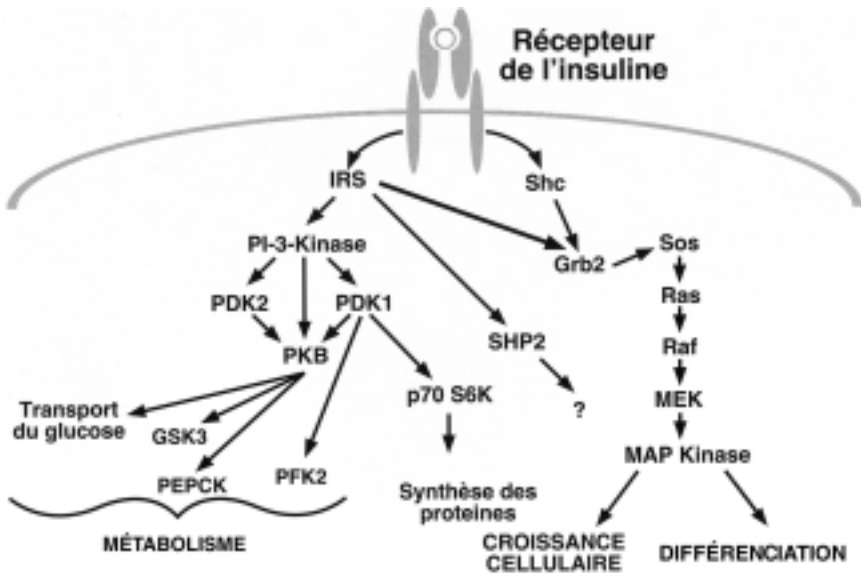


FIG. 6. — Réseau de signalisation de l'insuline ; les abréviations sont explicitées dans le texte.

teur de la PI3-kinase mais indépendant de la PKB/Akt, intervient dans la synthèse des protéines [55] (fig. 6).

L'autre voie principale de signalisation, celle des MAP kinases, a également pour point de départ les IRS, mais aussi le substrat *Shc* (*Src homology collagen protein*) qui, après avoir été phosphorylé sur des résidus tyrosyl par la tyrosine kinase du récepteur activée par l'insuline, devient (comme les IRS) capable de s'associer à *Grb2* (*Growth factor Receptor Bound protein 2*), une autre protéine SH2. La formation du complexe SHC/*Grb2* (ou IRS/*Grb2*) conduit, par l'intermédiaire du facteur d'échange *Sos* (homologue de la protéine *Son of sevenless* de la drosophile), à l'activation de *Ras*, protéine G de faible poids moléculaire qui lie le GTP (forme active de *Ras*) et l'hydrolyse en GDP. Il s'ensuit une activation de la cascade des MAP kinases qui débute par l'activation de *Raf* (une sérine/thréonine kinase), suivie de l'activation séquentielle de *MEK* (MAP kinase kinase ou ERK kinase) et des MAP kinases (ou ERK1 et ERK2, *Extracellular signal-Regulated protein Kinases*), sérine/thréonine kinases qui conduisent notamment à la phosphorylation de facteurs de transcription. La voie des MAP kinases est impliquée dans la croissance et la différenciation cellulaires (voir fig. 6).

Ces voies de signalisation ne sont pas nécessairement requises pour tous les effets de l'insuline. Ainsi, le facteur de transcription Stat_{5B} (*Signal Transduction and Activator of Transcription*) peut être activé directement par le récepteur de l'insuline, et cette activation peut intervenir dans la transcription du gène de la glucokinase hépatique [56]. Dans ce nouveau paradigme de la signalisation de l'insuline, court-circuitant le réseau complexe de signalisation, un facteur de transcription relie directement le récepteur de surface à la régulation hormonale d'un événement nucléaire.

Stimulation du transport du glucose : un transfert des transporteurs GLUT4 d'un compartiment intra-cellulaire vers la membrane plasmique

L'insuline stimule l'entrée du glucose dans les cellules adipeuses et musculaires par diffusion facilitée par les transporteurs GLUT4. En l'absence d'insuline, les transporteurs GLUT4 sont retenus dans des vésicules formant un compartiment intra-cellulaire de séquestration. L'hormone provoque le transfert de ces vésicules vers la membrane plasmique, permettant aux transporteurs de capter le glucose extra-cellulaire [33, 39, 57, 58]. L'activation de la PI3-kinase et de la PKB/Akt est mise en jeu dans la stimulation par l'insuline de ce transfert de GLUT4. Des protéines Rab (protéines G de faible poids moléculaire), notamment Rab4, sont impliquées dans le trafic cellulaire des transporteurs GLUT4 et leur déplacement sous l'effet de l'insuline [58]. Dans la plupart des situations comportant une insulino-résistance, comme l'obésité et le diabète de type 2, c'est la fonction plutôt que l'expression de GLUT4 qui est altérée, notamment dans le muscle ; ces anomalies peuvent concerner le trafic cellulaire des vésicules contenant GLUT4, ou leur fusion avec la membrane plasmique [57]. Les altérations observées au niveau de la voie de signalisation PI3-kinase – PKB/Akt dans les états d'insulino-résistance sous-tendent la stimulation défectueuse du transport du glucose par l'insuline dans ces situations.

Les leçons des modèles d'invalidation génique

L'invalidation du gène de l'IRS-1 n'entraîne qu'une insulino-résistance modérée et une diminution de la tolérance au glucose, mais l'association d'une invalidation hétérozygote du gène du récepteur de l'insuline et d'une invalidation hétérozygote du gène de l'IRS-1 aboutit à une insulino-résistance plus sévère, et à l'apparition d'un diabète ressemblant au type 2 chez 40 % des souris [59]. Ces observations, qui évoquent des interactions épistatiques entre gènes différents au sein du réseau de signalisation, sont à rapprocher du déterminisme polygénique du diabète de type 2. L'invalidation du gène de l'IRS-2 reproduit quant à elle un modèle « monogénique » de diabète de type 2 chez les souris mâles avec, outre une résistance à l'insuline, une réduction de la masse des cellules β pancréatiques qui aboutit à un diabète [60]. Le phénotype des souris IRS-2^(-/-) femelles est quelque peu différent : il existe une hyperphagie, une obésité et une infertilité d'origine hypothalamique [61].

L'invalidation du gène du récepteur de l'insuline tissu cible par tissu cible a donné lieu à des observations intéressantes, parfois surprenantes. Ainsi, l'invalidation du gène du récepteur dans le seul muscle squelettique ne provoque pas de diabète, mais reproduit certaines anomalies du syndrome plurimétabolique, notamment une hypertriglycéridémie et une augmentation des acides gras libres [62]. L'invalidation du gène du récepteur au niveau de la cellule β conduit à une perte sélective de la phase précoce de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose et à une diminution progressive de la tolérance au glucose [63]. L'invalidation du gène du récepteur de l'insuline au niveau neuronal produit un phénotype qui comporte une obésité, une hyperphagie et une diminution de la fertilité d'origine hypothalamique [64]. Ce phénotype rappelle celui observé chez les souris femelles après invalidation du gène de l'IRS-2 [61]. Il est difficile d'extrapoler des modèles

d'invalidation génique à la pathologie humaine, mais ces observations attirent l'attention sur deux cibles non « classiques » de l'insuline, la cellule β et le système nerveux central. Le rôle possible d'altérations de la signalisation de l'insuline au niveau de la cellule β peut fournir un concept unificateur à la pathogénie du diabète de type 2. Au niveau du cerveau, jointes à des observations physiologiques plus anciennes, ces données suggèrent que l'insuline et son réseau de signalisation sont impliqués, comme la leptine et peut-être de concert avec elle, non seulement dans la régulation de la prise alimentaire et du poids corporel, mais aussi dans le contrôle de la fonction de reproduction [65].

Des régulations homologues et hétérologues au sein du réseau de signalisation

Les substrats IRS ne sont pas seulement des molécules de signalisation positive pour les effets de l'insuline. Ils peuvent jouer un rôle inhibiteur, comme cela a été montré pour l'IRS-1 lorsque ce substrat est phosphorylé sur sérine [66]. La phosphorylation de l'IRS-1 sur sérine inhibe la tyrosine kinase du récepteur et diminue la capacité d'association de l'IRS-1 à d'autres molécules de signalisation telles que la PI3-kinase (revue *in* [45]). Le *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF α) accroît la phosphorylation de l'IRS-1 (et peut-être celle d'autres IRS) sur sérine, et altère la signalisation de l'insuline par ce mécanisme [67]. À côté d'une telle régulation « hétérologue », l'insuline elle-même peut être impliquée dans une boucle de régulation négative « homologue » par l'intermédiaire de l'activation de la PI3-kinase. Celle-ci, outre son activité lipide kinase, exerce une activité sérine kinase capable de phosphoryler l'IRS-1 [66] et, partant, d'altérer le processus de signalisation.

Les protéines SOCS (*Suppressor of Cytokine Signaling*) régulent de façon négative la signalisation des cytokines en inhibant l'activation, par celles-ci, de la voie Jak (Janus kinase) – Stat (revue *in* [45]). Leur expression étant accrue par les cytokines, les SOCS participent à des boucles de régulation négative de l'action des interleukines, de l'interféron γ , du TNF α , de l'hormone de croissance (GH) et de la leptine. La protéine SOCS-3 inhibe l'activation de Stat_{5B} par l'insuline [68]. Cette inhibition peut expliquer, au moins pour une part, l'effet « anti-insuline » de la GH et peut-être celui (bien que controversé) de la leptine, qui toutes deux augmentent l'expression de SOCS-3 (fig. 7). L'induction de SOCS-3 par le TNF α représente aussi un mécanisme supplémentaire d'inhibition de la signalisation de l'insuline par cette cytokine. À côté de ces régulations hétérologues, la mise en évidence d'un effet inducteur de l'insuline sur l'expression de SOCS-3 par l'intermédiaire de Stat_{5B} suggère une boucle de régulation négative homologue [68] (fig. 7). Ainsi, indépendamment des régulations hétérologues par divers agents s'opposant à son action, l'insuline elle-même module sa propre action par plusieurs boucles de régulation négative qui affectent l'action de l'hormone à différents niveaux : nombre des récepteurs ; activité tyrosine kinase du récepteur ; expression et capacité des IRS à interagir avec le réseau de signalisation ; inhibition par SOCS-3 de l'activation de Stat_{5B}.

À côté des régulations négatives, homologues et hétérologues, la possibilité d'une régulation positive de la signalisation de l'insuline existe au travers d'une modulation de la déphosphorylation des résidus tyrosyl de la kinase du récepteur

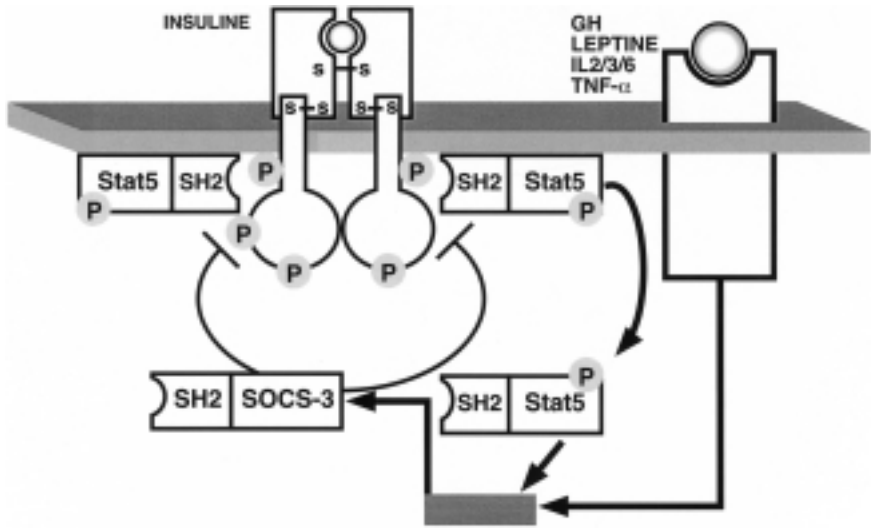


FIG. 7. — Boucles de régulation homologues et hétérologues au sein du réseau de signalisation de l'insuline ; les abréviations sont explicitées dans le texte (adapté d'après [45]).

et des IRS. La protéine tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) régule négativement l'action de l'insuline en déphosphorylant les résidus tyrosyl du récepteur et de l'IRS-1. L'inactivation de la PTP1B par phosphorylation sur sérine est susceptible d'amplifier la signalisation de l'insuline en maintenant un niveau élevé de phosphorylation sur tyrosine de la kinase du récepteur et de l'IRS-1. La PKB/Akt, mise en jeu par la voie de la PI3-kinase, peut inactiver la PTP1B par ce mécanisme [69] et ainsi amplifier l'action de l'insuline. Il existe donc, à différents niveaux du réseau de signalisation, des possibilités de régulation négative et positive de l'action de l'hormone. Ces différents circuits de contrôle sont vraisemblablement impliqués dans la coordination des réponses cellulaires aux multiples voies de signalisation activées par l'insuline.

CONCLUSION

Depuis 1971, la connaissance des mécanismes d'action de l'insuline a fait des progrès considérables. D'abord défini de manière opérationnelle par son aptitude à reconnaître et à lier l'hormone avec un haut degré de spécificité, le récepteur de l'insuline a vu sa structure élucidée. Les molécules et les circuits concernés par la signalisation des effets de l'hormone ont été largement identifiés. Plusieurs mécanismes impliqués dans l'établissement d'une insulino-résistance ont été élucidés à partir de modèles animaux et retrouvés en pathologie humaine. Des cibles accessibles à une intervention diététique et pharmacologique ont été identifiées. Cependant, tous les aspects de l'action de l'hormone, à l'état normal comme en pathologie, ne sont pas complètement connus. Commencée voici un peu plus de trente années, l'histoire du récepteur de l'insuline n'est pas encore tout à fait terminée.

Remerciements : Mes très vifs remerciements au Dr Jean Giudicelli pour sa lecture attentive du manuscrit et pour l'aide précieuse qu'il m'a si souvent apportée lors de l'élaboration du manuscrit et de l'iconographie ; au Prof. Emmanuel Van Obberghen, et au Dr Yannick Le Marchand-Brustel, pour les documents qu'ils m'ont aimablement communiqués.

BIBLIOGRAPHIE

1. FREYCHET P, ROTH J, NEVILLE DM Jr. Insulin receptors in the liver : specific binding of [¹²⁵I] insulin to the plasma membrane and its relation to insulin bioactivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1971, 68 : 1833-1837.
2. CUATRECASAS P. Insulin-receptor interactions in adipose tissue cells : direct measurement and properties. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1971, 68 : 1264-1268.
3. VAN OBBERGHEN E. Signalling through the insulin receptor and the insulin-like growth factor-I receptor. *Diabetologia*, 1994, 37 (Suppl 2) : S125-S134.
4. CHEATHAM, KAHN CR. Insulin action and the insulin signaling network. *Endocr Rev*, 1995, 16 : 117-142.
5. SODOYEZ JC, SODOYEZ-GOFFAUX F, GOFF MM et al. (¹²⁷I)-or carrier-free (¹²⁵I) monoiodoinsulin. Preparation, physical, immunological, and biological properties, and susceptibility to « insulinase » degradation. *J Biol Chem*, 1975, 250 : 4268-4277.
6. FREYCHET P, ROTH J, NEVILLE DM Jr. Monoiodoinsulin : demonstration of its biological activity and binding to fat cells and liver membranes. *Biochem Biophys Res Commun*, 1971, 43 : 400-408.
7. FREYCHET P. Récepteurs de l'insuline. *In* : *Actualités Pharmacologiques*, Paris, Masson, 1979 : 9-34.
8. PULLEN RA, LINDSAY DG, WOOD SP et al. On the receptor-binding region of insulin. *Nature*, 1976, 279 : 369-373.
9. WOOD SP, BLUNDELL TL, WOLLMER A et al. The relation of conformation and association of insulin to receptor binding, X-ray and circular-dichroism : studies on bovine and hystricomorph insulins. *Eur J Biochem*, 1975, 55 : 531-542.
10. FREYCHET P, BRANDENBURG D, WOLLMER A. Receptor-binding assay of chemically modified insulins. Comparison with in vitro and in vivo bioassays. *Diabetologia*, 1974, 10 : 1-5.
11. FREYCHET P. The interactions of proinsulin with insulin receptors on the plasma membrane of the liver. *J Clin Invest*, 1974, 54 : 1020-1031.
12. SIMON J, FREYCHET P, ROSSELIN G, DE MEYTS P. Enhanced binding affinity of chicken insulin in rat liver membranes and human lymphocytes : relationship to the kinetic properties of the hormone-receptor interaction. *Endocrinology*, 1977, 100 : 115-121.
13. FREYCHET P. Interactions of polypeptide hormones with cell membrane specific receptors : studies with insulin and glucagon. *Diabetologia*, 1976, 12 : 83-100.
14. DE MEYTS P, VAN OBBERGHEN E, ROTH J et al. Mapping of the residues responsible for the negative cooperativity of the receptor-binding region of insulin. *Nature*, 1978, 273 : 504-509.
15. LE MARCHAND-BRUSTEL Y, GORDEN P, FLIER JS et al. Anti-insulin receptor antibodies inhibit insulin binding and stimulate glucose metabolism in skeletal muscle. *Diabetologia*, 1978, 14 : 311-317.
16. TAYLOR SI, CAMA A, ACCILI D et al. Mutations in the insulin receptor gene. *Endocr Rev*, 1992, 13 : 566-595.
17. MOSTHAF L, GRAKO K, DULL TJ et al. Functionally distinct insulin receptors generated by tissue-specific alternative splicing. *EMBO J*, 1990, 9 : 2409-2413.
18. LE MARCHAND-BRUSTEL Y, JEANRENAUD B, FREYCHET P. Insulin binding and effects in isolated soleus muscle of lean and obese mice. *Am J Physiol*, 1978, 234 : E348-E358.
19. FORGUE ME, FREYCHET P. Insulin receptors in the heart muscle : demonstration of specific binding sites and impairment of insulin binding in the plasma membrane of the obese hyperglycemic mouse. *Diabetes*, 1975, 24 : 715-723.

20. LE MARCHAND-BRUSTEL Y, LOTEN G, ASSIMACOPOULOS-JEANNET F et al. Effect of fasting and streptozotocin in the obese-hyperglycemic (*ob/ob*) mouse. Apparent lack of a direct relationship between insulin binding and insulin effects. *Diabetes*, 1977, 26 : 582-590.
21. LE MARCHAND-BRUSTEL Y, FREYCHET P. Effect of fasting and streptozotocin diabetes on insulin binding and action in the isolated mouse soleus muscle. *J Clin Invest*, 1979, 64 : 1505-1515.
22. FANTUS IG, RYAN J, GORDEN P. The insulin receptor in insulin-dependent diabetes mellitus : an in vivo and in vitro study. *Metabolism*, 1981, 30 : 510-517.
23. HARRISON LC, KASUGA M, VAN OBBERGHEN E. The insulin receptor of the human lymphocyte : insulin-induced down regulation of 126.000 and 90.000 glycosylated subunits. *Diabetologia*, 1982, 22 : 233-238.
24. CARPENTIER JL. The cell biology of the insulin receptor. *Diabetologia*, 1989, 32 : 627-635.
25. CARPENTIER JL, GORDEN P, FREYCHET P et al. Lysosomal association of internalized [¹²⁵I]-insulin in isolated rat hepatocytes. Direct demonstration by quantitative electron microscopic autoradiography. *J Clin Invest*, 1979, 63 : 1249-1261.
26. FEHLMANN M, CARPENTIER JL, VAN OBBERGHEN E et al. Internalized insulin receptors are recycled to the cell surface in rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79 : 5921-5925.
27. CARPENTIER JL, GAZZANO H, VAN OBBERGHEN E et al. Intracellular pathway followed by the insulin receptor covalently coupled to [¹²⁵I]-photoreactive insulin during internalization and recycling. *J Cell Biol*, 1986, 102 : 989-996.
28. CARPENTIER JL, ROBERT A, GRUNBERGER G et al. Receptor-mediated endocytosis of polypeptide hormones is a regulated process : inhibition of [¹²⁵I]-Iodoinsulin internalization in hypoinsulinemic diabetes of rat and man. *J Clin Endocrinol Metab*, 1986, 63 : 151-155.
29. KHAN MN, BAQUIRAN G, BRULE C et al. Internalization and activation of the rat liver insulin receptor kinase in vivo. *J Biol Chem*, 1989, 264 : 12931-12940.
30. BAUDRY A, BUCCHINI D, DELTOUR L et al. L'insuline et son récepteur : enseignements tirés de l'invalidation de leur gène chez la souris. *In : Journées de Diabétologie, Paris, Flammarion Médecine Sciences*, 1999 : 105-113.
31. FREYCHET P, LAUDAT MH, LAUDAT P et al. Impairment of insulin binding to the fat cell plasma membrane in the obese hyperglycemic mouse. *FEBS Letters*, 1972, 25 : 339-342.
32. FREYCHET P. Récepteurs de l'insuline : aspects biochimiques et physiopathologiques. *CR Soc Biol*, 1984, 178 : 5-17.
33. LE MARCHAND-BRUSTEL Y. Résistance à l'insuline dans l'obésité. *Médecine/Sciences*, 1987, 3 : 394-402.
34. DOLAIS-KITABGI J, CHECLER F, REY JF et al. Insulin stimulation of amino acid transport in primary cultured rat hepatocytes varies in direct proportion to insulin binding. *FEBS Letters*, 1981, 128 : 321-324.
35. LEMARCHAND-BRUSTEL Y, GREMEAUX T, BALLOTTI R, VAN OBBERGHEN E. Insulin receptor tyrosine kinase is defective in skeletal muscle of insulin-resistant obese mice. *Nature*, 1985, 315 : 676-679.
36. KAHN CR. Signalisation de l'insuline et mécanismes moléculaires de l'insulinorésistance. *In : Journées de Diabétologie, Paris, Flammarion Médecine Sciences*, 1999 : 125-141.
37. GOODYEAR LJ, GIORGINO F, SHERMAN LA et al. Insulin receptor phosphorylation, insulin receptor substrate-1 phosphorylation, and phosphatidylinositol 3-kinase activity are decreased in intact skeletal muscle strips from obese subjects. *J Clin Invest*, 1995, 95 : 2195-2204.
38. HEYDRICK SJ, GAUTIER N, OLICHON-BERTHE C et al. Early alteration of insulin stimulation of PI3-kinase in muscle and adipocyte from gold thioglucose obese mice. *Am J Physiol*, 1995, 268 : E604-E612.
39. LE MARCHAND-BRUSTEL Y. Molecular mechanisms of insulin action in normal and insulin-resistant states. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1999, 107 : 126-132.
40. KROOK A, ROTH RA, JIANG XJ et al. Insulin-stimulated Akt kinase activity is reduced in skeletal muscle from NIDDM subjects. *Diabetes*, 1998, 47 : 1281-1286.
41. RICORT JM, TANTI JF, VAN OBBERGHEN E, LE MARCHAND-BRUSTEL Y. Alterations in insulin signaling pathway induced by prolonged insulin treatment of 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia*, 1995, 38 : 1148-1156.

42. KIM YB, ZHU JS, ZIERATH JR et al. Glucosamine infusion in rats rapidly impairs insulin stimulation of phosphoinositide 3-kinase but does not alter activation of Akt/Protein kinase B in skeletal muscle. *Diabetes*, 1999, 48 : 310-320.
43. VIRKAMAKI A, KORSHENINNIKOVA E, SEPPALA-LINDROOS A et al. Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin action on glucose uptake, antilipolysis, and early insulin pathways in human skeletal muscle. *Diabetes*, 2001, 50 : 2337-2343.
44. DEBANT A, GUERRE-MILLO M, LE MARCHAND-BRUSTEL Y et al. Insulin receptor kinase is hyper-responsive in adipocytes of young obese Zucker rats. *Am J Physiol*, 1987, 252 : E273-E278.
45. VAN OBERGHEEN E, BARON V, DELAHAYE L et al. Surfing the insulin signaling web. *Eur J Clin Invest*, 2001, 31 : 966-977.
46. COMBETTES-SOUVERAIN M, ISSAD T. Molecular basis of insulin action. *Diabetes Metab*, 1998, 24 : 477-489.
47. VAN OBERGHEEN E, KOWALSKI A. Phosphorylation of the hepatic insulin receptor : stimulating effect of insulin in intact cells and in a cell-free system. *FEBS Letters*, 1982, 143 : 179-182.
48. KASUGA M, KARLSSON FA, KAHN CR. Insulin stimulates the phosphorylation of the 94,000-dalton subunit of its own receptor. *Science*, 1982, 215 : 185-187.
49. PETRUZZELLI LM, GANGALY S, SMITH CR et al. Insulin activates a tyrosine-specific protein kinase in extracts of 3T3-L1 adipocytes and human placenta. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79 : 6792-6796.
50. TANTI JF, GRILLO S, GREMEAUX T et al. Potential role of protein kinase B in glucose transporter 4 translocation in adipocytes. *Endocrinology*, 1997, 138 : 2005-2010.
51. GABBAY RA, SUTHERLAND C, GNUDI L et al. Insulin regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression does not require activation of the Ras/Mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *J Biol Chem*, 1996, 271 : 1890-1897.
52. CROSS DAE, WATT PW, SHAW M et al. Insulin activates protein kinase B, inhibits glycogen synthase kinase-3 and activates glycogen synthase by rapamycin-insensitive pathways in skeletal muscle and adipose tissue. *FEBS Letters*, 1997, 406 : 211-215.
53. BERTRAND L, ALESSI DR, DEPREZ J et al. Heart 6-phosphofructo-2-kinase activation by insulin results from Ser-466 and Ser-483 phosphorylation and requires 3-phosphoinositide-dependent kinase-1, but not protein kinase B. *J Biol Chem*, 1999, 274 : 30927-30933.
54. DUDEK H, DATTA SR, FRANKE TF et al. Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase Akt. *Science*, 1997, 275 : 661-665.
55. AVRUCH J. Insulin signal transduction through protein kinase cascades. *Mol Cell Biochem*, 1998, 182 : 31-48.
56. SAWKA-VERHELLE D, TARTARE-DECKERT S, DECAUX JF et al. Stat 5B, activated by insulin in a Jak-independent fashion, plays a role in *glucokinase* gene transcription. *Endocrinology*, 2000, 141 : 1977-1988.
57. KAHN BB. Facilitative glucose transporters : regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. *J Clin Invest*, 1992, 89 : 1367-1374.
58. CORMONT M, GAUTIER N, ILC K, LE MARCHAND-BRUSTEL Y. Expression of a prenylation-deficient Rab4 inhibits the GLUT4 translocation induced by active phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B. *Biochem J*, 2001, 356 : 143-149.
59. BRUNING JC, WINNAY J, BONNER-WEIR S et al. Development of a novel polygenic model of NIDDM in mice heterozygous for *IR* and *IRS-1* null alleles. *Cell*, 1997, 88 : 561-572.
60. WITHERS DJ, SANCHEZ GUTIERREZ J, TOWERY H et al. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*, 1998, 391 : 900-904.
61. BURKS D, FONT DE MORA J, SCHUBERT M et al. IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis. *Nature*, 2000, 407 : 377-382.
62. BRUNING JC, MICHAEL MD, WINNAY JN et al. A muscle-specific insulin receptor knockout exhibits features of the metabolic syndrome of NIDDM without altering glucose tolerance. *Mol Cell*, 1998, 2 : 559-569.
63. KULKARNI RN, BRUNING JC, WINNAY JN et al. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic β cells creates an insulin secretory defect similar to that in Type 2 diabetes. *Cell*, 1999, 96 : 329-339.

64. BRUNING JC, GAUTAM D, BURKS DJ et al. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science*, 2000, 289 : 2122-2125.
65. FREYCHET P. Insulin receptors and insulin actions in the nervous system. *Diabetes Metab Res Rev*, 2000, 16 : 390-392.
66. TANTI JF, GREMEAUX T, VAN OBBERGHEN E, LE MARCHAND-BRUSTEL Y. Insulin receptor substrate 1 is phosphorylated by the serine kinase activity of phosphatidylinositol 3-kinase. *Biochem J*, 1994, 304 : 17-21.
67. PERALDI P, SPIEGELMAN BM. TNF- α : lien moléculaire entre obésité et résistance à l'insuline. *In* : Journées de Diabétologie, Paris, Flammarion Médecine Sciences, 1997 : 149-159.
68. EMANUELLI B, PERALDI P, FILLOUX C et al. SOCS-3 is an insulin-induced negative regulator of insulin signaling. *J Biol Chem*, 2000, 275 : 15985-15991.
69. RAVICHANDRAN LV, CHEN H, LI Y, QUON MJ. Phosphorylation of PTP 1 B at Ser⁵⁰ by Akt impairs its ability to dephosphorylate the insulin receptor. *Mol Endocrinol*, 2001, 15 : 1768-1780.