

PROTEINES DÉCOUPLANTES

par

D. RICQUIER¹

INTRODUCTION

L'énergie nécessaire à la vie des organismes animaux dépend entièrement, d'une part des substrats alimentaires, et d'autre part des substrats mis en réserve sous forme de glycogène et principalement de triglycérides. L'utilisation des substrats énergétiques se fait à travers plusieurs voies métaboliques constituées de réactions libérant ou consommant de l'énergie. L'importance relative de ces diverses réactions est modulée en fonction des situations physiologiques ou pathologiques que connaît l'organisme. La première protéine découplante mitochondriale identifiée joue un rôle important dans la production de chaleur chez les petits mammifères et les nouveau-nés. La découverte récente de nouvelles protéines découplantes a suscité de l'intérêt dans la mesure où de telles protéines pouvaient avoir un rôle important dans le contrôle des réactions métaboliques et des situations pathologiques telles les obésités et les diabètes.

BIOENERGETIQUE MITOCHONDRIALE

Rappels sur les fonctions mitochondriales

Les mitochondries sont présentes dans toutes les cellules. Ces organites constitués de 2 membranes entourant un espace matriciel ont de nombreuses fonctions. Ils participent à de nombreuses voies métaboliques et de nombreux processus dont le plus important est sans doute la respiration cellulaire. Les autres processus se déroulant dans les mitochondries sont : la β -oxydation des acides gras, le cycle des acides tricarboxyliques, certaines étapes du cycle de l'urée et de la synthèse des hormones stéroïdes. Outre le métabolisme, des travaux récents ont démontré que les mitochondries participent à certaines étapes du processus d'apoptose.

Aspects énergétiques

Les coenzymes réduits NADH et FADH₂ formés par la glycolyse, l'oxydation des acides gras et le cycle de Krebs sont des molécules riches en énergie car elles contiennent une paire d'électrons à haut potentiel de transfert. Dans les mitochondries, ces électrons sont transférés à des molécules d'oxygène et cette réaction libère une grande quantité d'énergie. Une des fonctions essentielles des mitochondries est d'utiliser cette énergie libre pour produire de l'ATP par phosphorylation de l'ADP. L'oxydation d'une molécule de NADH produit 3 molécules d'ATP, celle d'une molécule de FADH₂ génère 2 molécules d'ATP. La réoxydation des coenzymes réduits produit des coenzymes oxydés qui sont nécessaires à de nombreuses voies métaboliques.

La réoxydation des coenzymes et la phosphorylation de l'ADP dans les mitochondries sont des processus couplés. Ceci signifie que la respiration des mitochondries est limitée par leur capacité de phosphorylation de l'ADP. Le mécanisme du couplage des phosphorylations oxydatives a été élucidé. Il met en jeu une succession de réactions permettant des transferts d'électrons et de protons par les différents complexes formant la chaîne respiratoire. À l'état d'équilibre, lorsque des mitochondries oxydent des coenzymes, des protons sont expulsés hors de la membrane interne et établissent un gradient électrochimique qui se dissipe à travers la partie membranaire de l'ATP-synthase, de telle manière que ce circuit de protons est associé à la synthèse d'ATP. Le couplage entre l'oxydation des coenzymes et la synthèse d'ATP dans les mitochondries résulte donc de l'établissement d'un gradient de protons et d'un circuit de protons. En fait, ce couplage entre un processus exergonique (la respiration) et un processus endergonique (la synthèse d'ATP) n'est pas de 100 %. Tout couplage de ce type se traduit par une certaine perte d'énergie, en particulier sous

¹CNRS UPR 9078, 9 rue Jules Hetzel, 92190 Meudon.

forme de chaleur. La chaleur qui est perdue lors de la respiration cellulaire contribue fortement au métabolisme de base et est en bonne partie responsable du maintien de la température corporelle à 37 °C.

UCP1, LA PROTÉINE DECOUPLANTE DES MITOCHONDRIES DU TISSU ADIPEUX BRUN

Tissu adipeux brun

À côté de la forme classique de tissu adipeux la plus répandue, aussi appelée tissu adipeux blanc, les mammifères possèdent une seconde forme de tissu adipeux, le tissu adipeux brun [1, 2]. Cette forme de tissu adipeux est bien connue chez les petits mammifères, les animaux hibernants, et les mammifères nouveau-nés (par exemple le bébé humain). Ce tissu est particulièrement développé et activé chez des rongeurs non hibernants exposés au froid. En fait, ce tissu constitue un organe thermogénique qui permet aux animaux de résister au froid, se réchauffer lors du réveil s'ils sont hibernants et d'assurer leur homéothermie à la naissance. Ce tissu est très peu représenté chez les mammifères adultes de grande taille qui n'ont pas besoin d'organe thermogénique très puissant pour maintenir leur température corporelle à 37 °C. Le tissu adipeux brun contient des adipocytes possédant des gouttelettes de triglycérides. Les cellules sont innervées par des fibres orthosympathiques sécrétant de la noradrénaline. Enfin, les dépôts de tissu adipeux brun sont richement vascularisés, ce qui assure l'évacuation de la chaleur produite vers les régions cardiaque et cérébrale suite à l'activation des adipocytes bruns par le système sympathique.

Mitochondries du tissu adipeux brun

Les adipocytes bruns sont caractérisés par un chondriome exceptionnellement développé. En fait, la forte activité thermogénique des adipocytes bruns provient d'un comportement original de ces mitochondries. Comme il a été dit plus haut, la respiration mitochondriale est normalement couplée à la production d'ADP. Cette affirmation n'est pas valable pour les mitochondries des adipocytes bruns dont la respiration est naturellement découplée, de telle manière que la totalité de l'énergie des oxydations est dissipée sous forme de chaleur [2, 3].

Protéine découplante UCP1

Les mitochondries des adipocytes bruns sont équipées d'une protéine particulière, la première protéine découplante mitochondriale identifiée : UCP1. UCP1 est un transporteur de protons, activé par les acides gras libres et inhibés par des nucléotides, inséré dans la membrane interne des mitochondries. Lorsque la protéine est activée, lors de la stimulation du tissu adipeux brun, elle catalyse la dissipation du gradient des protons à travers la membrane et court-circuite l'ATP-synthétase. La chute du gradient de protons et du potentiel de membrane accélère la respiration qui, n'étant pas couplée à la phosphorylation de l'ADP, devient un processus purement thermogénique. Le découplage de la respiration stimule l'oxydation des graisses et génère de l'extra-chaleur [2, 3].

RECHERCHE D'AUTRES PROTEINES DECOUPLANTES

S'il est vrai que la respiration des adipocytes bruns activés est fortement découplée, la respiration des autres types de cellule n'est en fait jamais parfaitement couplée à la synthèse d'ATP. Nous savons que la respiration est toujours partiellement couplée à la phosphorylation de l'ADP dans des tissus tels les muscles squelettiques, le foie, les reins, le cerveau, etc. Le couplage partiel de la respiration dans ces tissus ne peut s'expliquer par la présence, même en faible quantité, de l'UCP1 spécifique des adipocytes bruns. Deux hypothèses furent faites [4, 5]. La première était l'existence de fuites de protons dans la membrane interne des mitochondries, dues par exemple à des transporteurs du type d'UCP1. La seconde hypothèse était basée sur une certaine inefficacité ("patinage") des chaînes respiratoires établissant un gradient de protons plus faible que prévu. C'est la première hypothèse qui a incité à rechercher et identifier des homologues d'UCP1.

NOUVELLES PROTEINES DECOUPLANTES MITOCHONDRIALES

Deux protéines proches d'UCP1 furent identifiées en 1997 [2, 6-10]. La première, nommée UCP2, correspond à une protéine identique pour 57 % à UCP1. Ce gène UCP2 est exprimé dans la quasi-totalité des tissus. La seconde, nommée UCP3, est identique pour 72 % à UCP2. Le gène UCP3 est principalement exprimé dans les muscles squelettiques. Les fortes homologies de séquence en acides aminés d'UCP1, UCP2 et UCP3 indiquaient que ces trois protéines appartenaient à une même famille et dérivait toutes du même gène ancêtre. Cela suggérait, mais encore fallait-il le prouver, que les 3 protéines partageaient des fonctions. La découverte de la première UCP végétale fut sans doute une

étape importante puisque cela prouvait que nous avons affaire à une famille de gènes très anciens correspondant probablement à des fonctions diverses [11].

FONCTIONS BIOCHIMIQUES ET ROLES PHYSIOLOGIQUES D'UCP2 ET UCP3

Activités des protéines UCP2 et UCP3

Exprimées dans des levures, les protéines UCP2 et UCP3 induisent un découplage respiratoire se traduisant par une baisse du potentiel membranaire mitochondrial. Purifiées à partir de systèmes recombinants bactériens et insérées dans des liposomes, UCP2 et UCP3 sont capables de transporter des protons comme le fait UCP1. Ces résultats établissent l'activité de découplage respiratoire des nouvelles UCPs. Toutefois, une telle conclusion est en désaccord avec certaines observations physiologiques [3].

Études génétiques d'UCP2 et UCP3

Les gènes UCP2 et UCP3 sont des gènes adjacents situés sur le chromosome 11 humain et le chromosome 7 murin [12]. Cette région génomique est associée à l'insulinémie et au métabolisme glucidique. Cette observation ajoutée à celle de l'activité métabolique des protéines renforçait l'hypothèse d'un rôle physiologique d'UCP2 et UCP3 dans le métabolisme énergétique, l'obésité et le diabète, hypothèse basée sur l'observation de la surexpression du gène UCP2 chez des souris résistantes à l'obésité induite par un régime hyperlipidique. Chez l'homme, plusieurs études de liaison génétique ou d'association de polymorphismes ont conforté cette hypothèse ou fortement suggéré que le locus UCP2/UCP3 était important pour la valeur du métabolisme de base [13, 15]. Par contre, d'autres études étaient en désaccord avec ces conclusions [3].

Études physiologiques d'UCP2 et UCP3

Les niveaux d'expression des gènes UCP2 et UCP3 furent récemment analysés dans nombre de situations physiologiques ou pathologiques : régimes nutritionnels, jeûne, exercice, exposition au froid, obésités, diabètes, tétraplégie, etc. L'ensemble des résultats ne donne pas une idée simple des rôles physiologiques d'UCP2 et UCP3 [3]. En particulier, l'augmentation de l'expression des gènes UCP2 et UCP3 dans les muscles squelettiques humains ou animaux au cours du jeûne, remet sérieusement en cause la nature de gènes impliqués dans la dépense énergétique [16, 17]. De tels résultats suggèrent plutôt que ces gènes interviennent dans des adaptations métaboliques aux flux d'acides gras [18].

Interruption des gènes UCP3 et UCP2 chez la souris

Pour essayer d'identifier les fonctions biologiques d'UCP2 et UCP3, ces gènes furent interrompus chez la souris par recombinaison homologe [19-21]. Ni les souris UCP3^{-/-}, ni les souris UCP2^{-/-} ne sont obèses, même si elles ingèrent un régime hyperlipidique. De même, ces souris résistent normalement au froid. Ces résultats indiquent que les gènes UCP2 et UCP3 ne participent pas aux processus de thermogénèse induits par l'exposition au froid ou la prise d'aliments.

Le gène UCP2 est fortement exprimé dans le système immunitaire et les îlots pancréatiques [22]. Dans un travail récent, nous avons montré que l'absence du gène accroît très fortement l'activité microbicide des macrophages. Ces résultats indiquent qu'il y a un lien entre UCP2, mitochondries et immunité naturelle. Ce phénotype s'explique par une surproduction d'ions superoxyde dans les macrophages, ce qui facilite la destruction des agents pathogènes. Ces travaux démontrent que la fonction d'UCP2 est, via une activité mitochondriale, de limiter la production des radicaux libres. UCP2 est donc un gène de réponse aux oxydants. UCP3 pourrait avoir une fonction semblable dans le muscle. Par ailleurs, l'analyse de l'expression du gène dans les îlots d'animaux obèses ou diabétiques conduisit Kassis et al. à proposer un rôle inhibiteur de la sécrétion d'insuline pour UCP2 [22]. En fait, les souris UCP2^{-/-} sont hypoglycémiques (travaux de B. Lowell à Boston et travaux sur nos souris UCP2^{-/-} avec R. Surwit et S. Collins à l'Université de Duke). Cette hypoglycémie est due à une meilleure sécrétion d'insuline par les îlots en réponse au glucose. UCP2 est donc bien un gène inhibiteur de la sécrétion d'insuline et un nouveau gène d'intérêt pour l'étude du diabète.

CONCLUSIONS

Les UCPs ou protéines découplantes mitochondriales correspondent à une famille de gènes appartenant à la famille des transporteurs d'anions et de protons des mitochondries. Cette famille de gènes est sans doute très ancienne. Il est possible que les fonctions d'UCP2 et UCP3 soient plus proches des fonctions des anciennes UCPs que d'UCP1 qui n'existe que chez les mammifères. UCP1 est une protéine récemment apparue et sélectionnée pour découpler la respiration et induire la thermogénèse dans les adipocytes bruns. UCP2 et UCP3 modifient l'activité mitochondriale pour limiter les ions superoxyde dangereux qui sont induits lorsque la quantité de substrats à oxyder s'accroît. Les nouvelles UCPs ont peut-être d'autres fonctions qu'il faut rechercher. UCP2 a certainement un rôle important dans le contrôle de la sécrétion d'insuline. UCP2 pourrait aider à comprendre de nouveaux aspects de la physiologie des îlots pancréatiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. NICHOLLS DG, LOCKE RM. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev*, 1984, *64* : 1-64.
2. HIMMS-HAGEN J, RICQUIER D. Brown adipose tissue. In : G Bray, C Bouchard, WPT James. *Handbook of Obesity*. New York-Basel-Hong Kong, Marcel Dekker, 1997 : 415-444.
3. RICQUIER D, BOULLAUD F. The uncoupling protein homologues : UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem J*, 1998, *345* : 161-179.
4. LUVISETTO S. Hyperthyroidism and mitochondrial uncoupling. *Biosci Rep*, 1997, *17* : 17-21.
5. BRAND MD, CHIEN LF, AINSWORTH EK et al. The causes and functions of mitochondrial proton leak. *Biochim Biophys Acta*, 1994, *1187* : 132-139.
6. FLEURY C, NEVEROVA M, COLLINS S et al. Uncoupling-protein-2 : a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nature Genet*, 1997, *15* : 269-272.
7. GIMENO, RE, DEMBSKI M, WENG X et al. Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog : A potential molecular mediator of human thermogenesis. *Diabetes*, 1997, *46* : 900-906.
8. BOSS O, SAMEC S, PAOLINI-GIACOBINO A et al. Uncoupling protein-3 : a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett*, 1997, *408* : 39-42.
9. VIDAL-PUIG A, SOLANES G, GRUJIC D et al. UCP3 : an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, *235* : 79-82.
10. GONG DW, HE Y, KARAS M, REITMAN M. Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, beta3-adrenergic agonists, and leptin. *J Biol Chem*, 1997, *272* : 24129-24132.
11. LALOI M, KLEIN M, RIESMEIER JW et al. A plant cold-induced uncoupling protein. *Nature*, 1997, *389* : 135-136.
12. PECQUEUR C, CASSARD-DOUCLIER AM, RAIMBAULT S et al. Functional organization of the human uncoupling protein-2 gene, and juxtaposition to the uncoupling protein-3 gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, *255* : 40-46.
13. BOUCHARD C, PERUSSE L, CHAGNON YC et al. Linkage between markers in the vicinity of the uncoupling protein 2 gene and resting metabolic rate in humans. *Hum Mol Genet*, 1997, *6* : 1887-1889.
14. WALDER K, NORMAN RA, HANSON RL et al. Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. *Hum Mol Genet*, 1998, *7* : 1431-1435.
15. OTABE S, CLEMENT K, DINA C et al. A genetic variation in the 5' flanking region of the UCP3 gene is associated with body mass index in humans in interaction with physical activity. *Diabetologia*, 2000, *43* : 245-249.
16. MILLET L, VIDAL H, ANDREELLI F et al. Increased uncoupling protein-2 and -3 mRNA expression during fasting in obese and lean humans. *J Clin Invest*, 1997, *100* : 2665-2670.
17. BOSS O, SAMEC S, KUHN F et al. Uncoupling protein-3 expression in rodent skeletal muscle is modulated by food intake but not by changes in environmental temperature. *J Biol Chem*, 1998, *273* : 5-8.
18. SAMEC S, SEYDOUX J, DULLOO AG. Role of UCP homologues in skeletal muscles and brown adipose tissue : mediators of thermogenesis or regulators of lipids as fuel substrate ? *FASEB J*, 1998, *12* : 715-724.
19. GONG DW, MONEMDJOU S, GAVRILOVA O et al. Lack of obesity and normal response to fasting and thyroid hormone in mice lacking uncoupling protein-3. *J Biol Chem*, 2000, *275* : 16251-16257.
20. VIDAL-PUIG AJ, GRUJIC D, ZHANG CY et al. Energy metabolism in uncoupling protein 3 gene knockout mice. *J Biol Chem*, 2000, *275* : 16258-16266.
21. ARSENJEVIC D, ONUMA H, PECQUEUR C et al. Mice lacking uncoupling protein-2 survive to *Toxoplasma gondii* infection. A link with reactive oxygen species production and immunity. *Nature Genet*, 2000, *26* : 435-439.
22. KASSIS N, BERNARD C, PUSTERLA A et al. Correlation between pancreatic islet uncoupling protein- 2 (UCP2) mRNA concentration and insulin status in rats. *Int J Exp Diabetes Res*, 2000, *1* : 185-193.