

ANNEXE XXII INFLUENCE DE L'INSULINE SUR L'ACTIVITÉ DES CELLULES

Les cellules des animaux reçoivent un apport en glucose qui fluctue entre les repas. L'afflux de glucose déclenche la sécrétion de plusieurs hormones (l'insuline et les IGF**), qui coordonnent la réponse de l'organisme à la fourniture de ce nutriment de base. L'insuline prépare les cellules à incorporer et à métaboliser le glucose, tandis que les IGF les incitent à se diviser.

XXII.A. MODE D'ACTION DE L'INSULINE

Chez les mammifères, le glucose accroît la sécrétion d'insuline par un mécanisme complexe, que nous ne détaillerons pas ici. Il pénètre dans les cellules β du pancréas, où il est dégradé par la glycolyse et le cycle de l'acide citrique. Ses métabolites accélèrent la synthèse et l'exocytose (sécrétion) de l'insuline. Un facteur décisif est l'élévation du rapport de concentration entre l'ATP et l'ADP, provoquée par l'alimentation de la chaîne respiratoire en électrons provenant du glucose. Ce facteur provoque la fermeture des canaux potassiques sensibles à l'ATP, ce qui entraîne une entrée d'ions Ca^{2+} dans la cellule et la fusion des vésicules d'exocytose contenant l'insuline avec la membrane plasmique.

L'hormone influence de diverses façons le métabolisme des cellules. En premier lieu, elle favorise la pénétration du glucose, en particulier dans les muscles et le tissu adipeux*, en modifiant la localisation du transporteur Glut4^{**} , qui s'insère dans la membrane plasmique, où il facilite la formation de pores aqueux, voies de passage du glucose (*fig. XXII.A*).

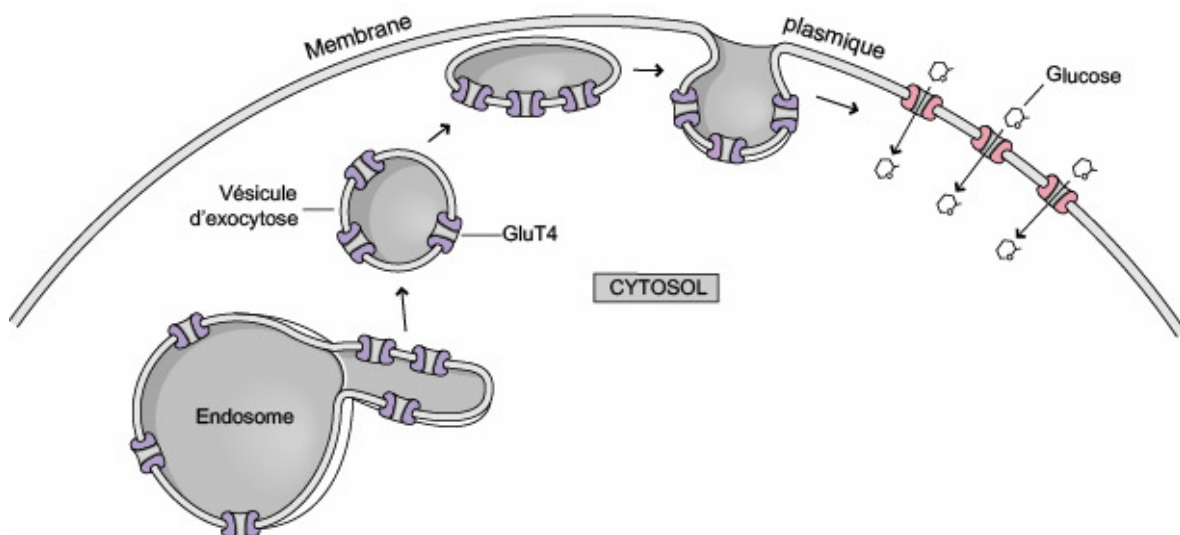


Fig. XXII.A. Intégration du transporteur GluT4^{} dans la membrane plasmique des cellules.**

Les cellules non stimulées par l'insuline n'incorporent pas le glucose, parce que leur membrane plasmique ne contient presque pas de transporteurs adéquats. Ces derniers sont retenus dans le cytosol par les endosomes. L'insuline provoque l'intégration des récepteurs dans la membrane. Des vésicules d'exocytose se détachent des endosomes et fusionnent avec elle.

(D'après Lienhard GE *et al. Sci Am* 1992; **266**: 86-91, modifié)

L'insuline ne peut pas agir directement sur la pénétration du glucose, ni sur le métabolisme des cellules, car elle est incapable de traverser leur membrane. Comme toutes les hormones de nature protéique ou peptidique, l'insuline et les IGF se lient à des récepteurs transmembranaires* localisés à la surface des cellules. Les récepteurs activés (les INR**) stimulent ou inhibent de nombreux processus à l'intérieur du cytoplasme et du noyau.

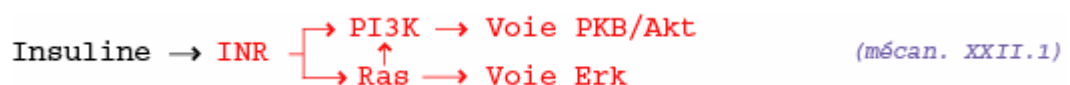
XXII.B. VOIES DE TRANSDUCTION CONTRÔLÉES PAR L'INSULINE

Les récepteurs deviennent actifs quand l'insuline ou une hormone apparentée se fixe sur leur domaine extracellulaire. Leur structure est de type $\alpha 2\beta 2$. La sous-unité β est une tyrosine kinase* dont l'activité est inhibée par la sous-unité α . La fixation de l'insuline sur la sous-unité α supprime cette inhibition, ce qui entraîne la phosphorylation de la sous-unité β et un changement de conformation ayant pour effet d'accroître l'activité de l'ensemble.

Les récepteurs INR déclenchent dans la cellule une cascade de phosphorylations qui amplifie le signal qu'ils perçoivent. Ils ouvrent deux voies de transduction* principales (*fig. XXII.B*). L'une aboutit à la kinase PKB**, l'autre à la kinase** Erk** (*annexe XIV.D et F*). La kinase terminale de la voie PKB/Akt a de très nombreuses cibles. C'est un enzyme de grande taille, qui comporte au moins une protéine Akt** et une protéine SGK1**, agissant en synergie au sein d'un complexe. La kinase terminale de la voie Erk a également de nombreuses cibles.

Les récepteurs INR ouvrent une troisième voie de transduction, non détaillée ici : la voie CBL/CAP/TC10. Cette dernière comporte notamment un substrat phosphorylable (CBL⁺), un facteur d'échange de type Gap** (CAP⁺) et une GTPase (TC10⁺), appartenant à la famille Ras**. L'ouverture de la voie se solde par la formation d'un complexe actif TC10-GTP, similaire au complexe Ras-GTP.

Les deux voies de transduction principales ouvertes par l'insuline et les IGF (PKB/Akt et Erk) sont interconnectées. Par exemple, la kinase PI3K** possède un site d'interaction avec la protéine Ras, qui la recrute au niveau de la membrane, où elle phosphoryle le lipide PIP2** (*fig. XXII.B*). Le récepteur INR peut donc ouvrir la voie PKB/Akt par l'intermédiaire de la protéine Ras :



Tout cela complique énormément les mécanismes de régulation, d'autant plus que la kinase PI3K peut aussi être activée par certains récepteurs de type GPCR**.

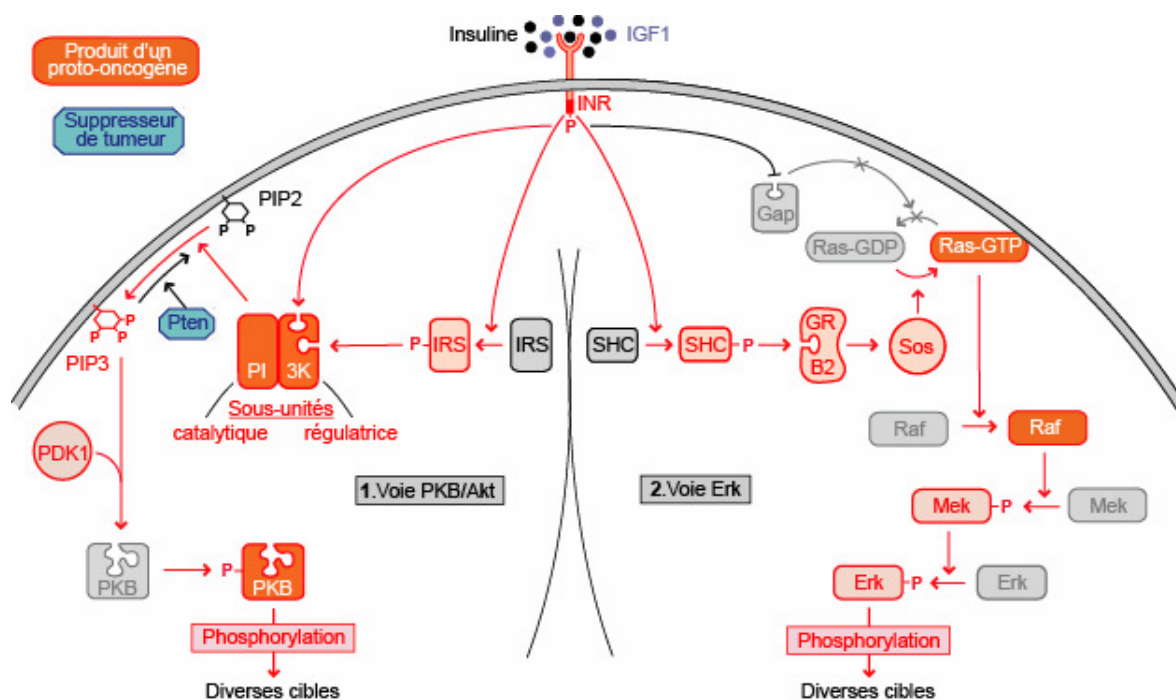


Fig. XXII.B. Voies de transduction ouvertes par l'insuline et l'IGF1.

Activé par l'insuline ou l'IGF1, le récepteur INR devient capable de phosphoryler plusieurs cibles, dont lui-même, ce qui renforce son activité.

1. Le récepteur ouvre la voie PKB/Akt en phosphorylant la protéine IRS. Les motifs phosphorylés de l'INR et de l'IRS sont reconnus par les domaines SH2 (représentés en creux), portés par la sous-unité régulatrice de la kinase PI3K. Cette double interaction pour effet rend fonctionnelle la sous-unité catalytique de la kinase. Celle-ci phosphoryle sur son carbone n° 3 le groupement inositol du lipide membranaire PIP2. Mais l'action de la kinase PI3K peut être annihilée par le produit de la phosphatase PTEN. Le lipide modifié (PIP3) est reconnu par la kinase PKB, ce qui l'attire au voisinage de la membrane et induit en elle un changement de conformation qui en fait une cible pour la kinase PDK1. La kinase PKB phosphorylée pénètre dans le noyau, où elle phosphoryle différents substrats.
2. Le récepteur INR ouvre la voie Erk en phosphorylant une protéine SHC. Les groupements phosphate de celle-ci sont reconnus par le domaine SH2 de la protéine adaptatrice GRB2**. Les protéines SHC et GRB2 forment un complexe qui active en se liant à lui le facteur Sos**, lequel facilite la conversion de la forme inactive de Ras (liant le GDP) en forme active (liant le GTP). Cette conversion est contrecarrée par le facteur Gap, qui favorise la transformation inverse. Mais le récepteur INR empêche le facteur Gap d'agir, parce que ce dernier interagit avec lui grâce à son domaine SH2. La protéine Ras-GTP active une série de trois kinases : une Map kinase kinase kinase (Raf), une Map kinase kinase (Mek) et une Map kinase* (Erk). Celle-ci module directement ou indirectement l'activité de plusieurs gènes et de plusieurs enzymes.

Chacune des deux voies peut être ouverte en permanence, sans que le récepteur INR soit stimulé. Il suffit pour cela qu'une ou plusieurs mutations transforme en oncoprotéine le produit d'un proto-oncogène, tel que PI3K, PKB, Ras ou Raf, ou inactive un suppresseur de tumeur, tel que PTEN.

XXII.C. PROCESSUS CONTRÔLÉS PAR LES VOIES DE TRANSDUCTION

L'insuline facilite la pénétration du glucose dans les cellules adipeuses (adipocytes) et musculaires (myocytes), mais ralentit sa synthèse et sa libération par les cellules du foie (hépatocytes). Elle est donc le principal régulateur de la glycémie sanguine. L'hormone stimule également la polymérisation du glucose en glycogène dans les adipocytes, les myocytes et les hépatocytes, ainsi que la croissance de ces divers types de cellules, parce qu'elle inhibe l'autophagie, mais accélère la synthèse des protéines, des ribosomes et des lipides (lipogénèse*). L'insuline favorise aussi la différenciation des adipocytes. Elle protège enfin contre l'apoptose les cellules qui portent des

récepteurs INR et les incite à se diviser, mais réduit leur aptitude à se défendre contre les dérivés nocifs de l'oxygène.

Les voies de transduction ouvertes par l'insuline et l'IGF1 agissent par l'intermédiaire de différents effecteurs, dont elles contrôlent directement ou indirectement l'activité. Les protéines relais appartiennent à trois catégories principales : celle des facteurs de transcription, tels que PPAR γ ^{**}, FoxO3^{**}, AP1^{**} et Myc^{**}, celle des enzymes, tels que GSK3⁺, Tor^{**} et MDM2^{**}, et celle des promoteurs d'apoptose, tels que Bad.

XXII.D. CONTRÔLE DU MÉTABOLISME DU GLUCOSE

La pénétration du glucose dans les cellules est stimulée, non seulement par l'ouverture de la voie PKB/Akt, mais aussi par celle de la voie CAP-CBL-TC10. Les kinases PI3K et PKB obligent les vésicules d'exocytose contenant le transporteur GluT4^{**} à s'insérer dans la membrane plasmique des cellules (*section A*), mais le mécanisme de cette interaction reste assez mal compris. L'effet du facteur TC10 est mieux connu : il interagit avec un complexe d'une dizaine de protéines, appelé exocyste, qui déclenche l'ancrage des vésicules à la membrane, puis leur fusion avec celle-ci.

La synthèse du glucose est inhibée par la kinase PKB. Celle-ci réprime, par l'intermédiaire de différents facteurs de transcription, toute une série de gènes, dont celui de la phosphoénolpyruvate carboxykinase, un enzyme clé de la gluconéogenèse.

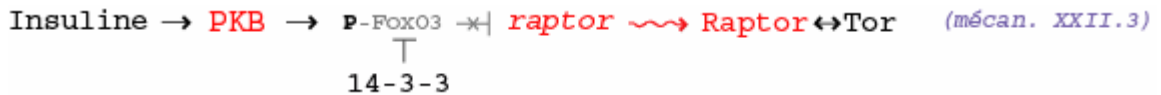
La kinase PKB stimule la synthèse du glycogène parce qu'elle inhibe en la phosphorylant la kinase GSK3, qui est elle-même un inhibiteur de la glycogène synthase. L'activité de celle-ci est donc renforcée.

XXII.E. CONTRÔLE DE LA CROISSANCE CELLULAIRE

Le récepteur INR contrôle l'autophagie et la synthèse des macromolécules (ARN ribosomique, protéines, lipides) par l'intermédiaire de la kinase Tor^{**}. Celle-ci est activée grâce à une série de relais incluant un facteur d'échange de type Gap, appelé TSC⁺, et une petite protéine G^{*}, appelée Rheb⁺, qui existe sous une forme active (liant le GTP), ou inactive (liant le GDP). La forme active est un inhibiteur de Rheb. Le complexe TSC se compose de deux éléments : TSC1 (aussi appelé hamartine) et TSC2 (aussi appelé tubérine). La phosphorylation de TSC2 par la kinase PKB entraînerait la dissociation du complexe TSC. Celui-ci ne pourrait plus empêcher le facteur Rheb d'accroître (de manière indirecte) l'activité de Tor. La voie conduisant à l'activation de Tor peut être schématisée comme suit :



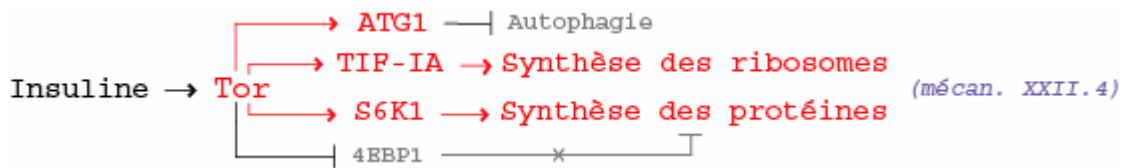
La kinase Tor agit sur certaines de ses cibles sous la forme d'un complexe avec le cofacteur Raptor^{**}, appelé TORC⁺. La synthèse de Raptor est stimulée par la kinase PKB. Celle-ci phosphoryle le facteur FoxO3^{**} à l'intérieur du noyau. Ce dernier migre alors dans le cytoplasme, où il est reconnu et maintenu sur place par des protéines de la famille 14-3-3^{**}, de sorte qu'il devient incapable de remplir l'une de ses fonctions, qui consiste à réprimer le gène *raptor* :



L'activité du couple Tor-Raptor peut aussi être accrue par un apport abondant en substances nutritives, et notamment en acides aminés (*chapitre 2, section 3.4.4*).

XXII.F. CIBLES DU FACTEUR TOR

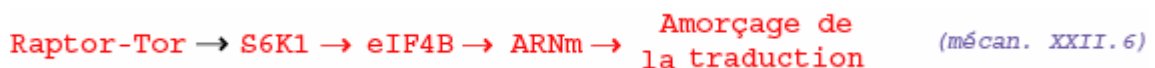
Parmi les nombreuses cibles de la kinase Tor, il faut citer le facteur ATG1, qui inhibe l'autophagie (*annexe IV.C*), ainsi que les protéines TIF-IA**, S6K1** et 4EBP1 (*eIF4E Binding Protein 1*), qui contrôlent la synthèse des ribosomes et des protéines :



Le facteur TIF-IA agit dans le nucléole, où il stimule la synthèse de l'ARN ribosomique (ARNr), donc des ribosomes :



La kinase S6K1 favorise de plusieurs manières l'amorçage et l'élongation des chaînes peptidiques. En premier lieu, elle phosphoryle le facteur eIF4B (*eukaryotic Initiation Factor 4B*), qui s'associe au sein du complexe d'amorçage avec son partenaire eIF4A**, formant ainsi une hélicase fonctionnelle, capable de supprimer dans la partie 5'-terminale de l'ARN messager (ARNm) les épingles à cheveux* qui le rendaient intraduisible :



La kinase S6K1 agit également sur la protéine PDCD4**, qui inhibe la traduction par l'intermédiaire du facteur d'amorçage eIF4A. Quand elle est phosphorylée par S6K1, PDCD4 devient une cible pour l'ubiquitine ligase* SCF, qui amorce sa destruction par le protéasome (*annexes X.A et XIII.D*) :



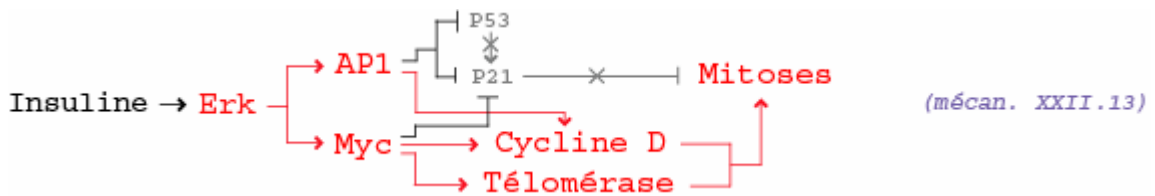
La kinase S6K1 phosphoryle aussi la protéine ribosomique S6, ce qui facilite la traduction de certains ARN messagers :



Ces ARN portent une série de 4 à 14 nucléotides pyrimidiques (U ou C) entre l'extrémité 5' et le codon de départ (AUG). Ils spécifient des protéines qui font partie de l'appareil de traduction.

Le facteur 4EBP1 coopère avec S6K1 pour stimuler l'amorçage des chaînes peptidiques. Normalement, il empêche la traduction de démarrer en se liant au facteur d'amorçage eIF4E**.

Quand elle activée, la Map kinase Erk migre dans le noyau, où elle phosphoryle divers substrats, ce qui a pour effet d'activer la variété mitogène (c-Jun/Fos) du facteur AP1**. Ce dernier inhibe l'activité des gènes *p53* et *p21*, mais stimule celle du gène de la cycline D, permettant ainsi à la cellule de progresser dans le cycle mitotique. Une autre cible de la kinase Erk est le facteur de transcription Myc**, qui réprime également l'expression du gène *p21*, mais renforce celle du gène de la cycline D. Rappelons que le facteur Myc stimule, avec son partenaire Max**, la synthèse de la télomérase, ce qui peut conduire les cellules à proliférer indéfiniment (*chapitre 2, section 2.5.11*). Le réseau d'interactions commandé par la kinase Erk peut être schématisé comme suit :

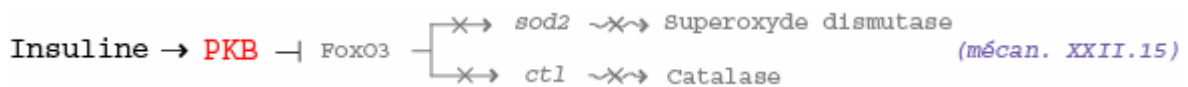


XXII.I. CONTRÔLE DE LA SÉNESCENCE MÉTABOLIQUE

La kinase PKB ralentit le métabolisme énergétique* des cellules. Elle le fait en phosphorylant le facteur de transcription FoxO3**. Celui-ci ne peut plus pénétrer dans le noyau, où il exerce sa fonction, qui consiste à renforcer l'activité de différents gènes, et notamment de *pgcα***, dont le produit stimule la biosynthèse des mitochondries (*chapitre 3, section 3.9.5*) :



Le ralentissement du métabolisme réduit la consommation d'oxygène, dont la production de radicaux oxydants. Mais cette diminution va de pair avec un affaiblissement des défenses contre des dérivés, du fait que le facteur FoxO3 ne peut plus stimuler la synthèse de la superoxyde dismutase mitochondriale (*sod2***) et de la catalase (*ctl***), comme il est expliqué ailleurs (*section 3.3.3*) :



XXII.J. INFLUENCE DE LA PROTÉINE P53 SUR L'EFFICACITÉ DE LA TRANSDUCTION

L'efficacité de la transduction peut être modifiée par des facteurs internes, et notamment par la protéine P53. Normalement, celle-ci réprime le gène *igf1r*, ce qui diminue le nombre de récepteurs présents en surface des cellules, donc leur sensibilité à l'IGF1. Par contre, elle active le gène *pten*^{**}, donc la synthèse de la phosphatase de même nom, ce qui peut empêcher le récepteur de l'IGF1^{**} (INR^{**}) d'ouvrir la voie PKB/Akt (*fig. XXII.B*). Par conséquent, la protéine P53 tend à fermer les deux voies de transduction principales contrôlées par le récepteur INR. Ce faisant, elle soustrait les cellules à l'action mitogène des facteurs de croissance.

Paradoxalement, la forme écourtée de la protéine P53 (P44^{**}) stimule la synthèse du récepteur IGF1R^{**}, mais ralentit celle de la phosphatase PTEN, favorisant ainsi l'ouverture des deux voies :



XXII.K. RÉCAPITULATION

L'insuline est surtout connue pour le rôle qu'elle joue dans l'approvisionnement en glucose des cellules. En fait, elle gouverne à peu près tout ce qui concerne le « bien-être » des cellules (*tabl. XXII*). Dès lors, on comprend mieux l'amplitude des dégâts que provoque une fourniture inadéquate en insuline ou une réaction inappropriée de l'organisme à cette hormone.

L'insuline n'est pas une hormone propre aux mammifères, ni même aux vertébrés. Des orthologues de l'insuline ont été mis en évidence chez de nombreux animaux, et en particulier chez les nématodes et les insectes. Les deux voies de transduction ouvertes par l'hormone fonctionnent à peu près de la même façon partout. Cependant, *C. elegans* et la drosophile n'ont qu'un récepteur pour l'insuline et les peptides apparentés (ILP^{**}). Les mammifères possèdent trois types de récepteurs, le premier pour l'insuline (IR), les deux autres pour l'IGF1 (IGFIR) et l'IGF2 (IGF2R). Ils possèdent aussi de très nombreuses variétés de Map KKK, de Map KK et de Map K.

Tabl. XXII. Effet de l'insuline sur les cellules des mammifères

Types cellulaires	Processus affectés		Voie(s) ouverte(s)	Effecteur(s)	Nature des effecteurs	Propriété des effecteurs modifiée	Cibles(s) des effecteurs
Adipocytes Myocytes	Métabolisme du glucose	Pénétration du glucose ↗	PKB/Akt	Mal connus	-	-	Transporteur GluT4 (→ membrane plasmique)
Hépatocytes		Synthèse du glucose ↘		Multiplés	Facteurs de transcription	Activité ↘	Phosphoénolpyruvate carboxykinase ↘
Adipocytes Myocytes Hépatocytes		Synthèse du glycogène ↗		GS3K*	Kinase	Activité enzymatique ↘	Glycogène synthase ↗
Adipocytes Myocytes Hépatocytes	Croissance	Autophagie ↘	PKB/Akt	Tor	Kinase	Activité enzymatique ↗	Kinase ATG1 ↗
		Synthèse des ribosomes ↗				Activité enzymatique ↗	Facteur TIF-IA ↗
		Synthèse des protéines ↗				Activité enzymatique ↗	Kinase S6K1 ↗ Protéine PDCD4 ↘
		Synthèse des lipides ↗	?	PPARγ	Facteur de transcription	Activité ↗	Plusieurs gènes ↗
Cellules souches	Différenciation	Adipogenèse ↗	PKB/Akt	PPARγ	Facteur de transcription	Activité ↗	Plusieurs gènes ↗
Nombreux types	Survie	Apoptose ↘	PKB/Akt	Bad*	Promoteur d'apoptose	Affinité pour BCL2 ↘	BCL2 ↗
Nombreux types	Prolifération	Mitoses ↗	PKB/Akt	MDM2*	Ubiquitine ligase	Activité enzymatique ↗	Protéine p53
				FoxO3*	Facteur de transcription	Activité ↘	Gènes p21 et p27 ↘
				GSK3*	Kinase	Activité enzymatique ↘	Cycline D ↗
			Erk	AP1*	Facteur de transcription	Activité ↘	Gènes p53 et p21 ↘
				Myc*	Facteur de transcription	Activité ↘	Gène p21 ↘
Nombreux types	Sénescence métabolique	Biogenèse des mitochondries ↘	PKB/Akt	FoxO3*	Facteur de transcription	Activité ↘	Gène pgc α ↘
		Élimination des dérivés nocifs de l'oxygène ↘					Gènes sod2 et cti ↘

* Substrats phosphorylés directement par les kinases terminales de l'une ou l'autre voie.

SIGNIFICATION DES CIBLES ET ACRONYMES

***CAP**. *CBL-Associated Protein*.

***Rheb**. *Ras homolog enriched in brain*.

***C/EBP α** . *CCAAT/Enhancer-Binding Protein α* .

***RXR α** . *Retinoic acid X Receptor α* .

***CBL**. *Casitas B-lineage Lymphoma oncogene*.

***TC10**. *Teratocarcinoma cDNA library clone 10*.

***GSK3**. *Glycogène Synthase Kinase 3*.

***TSC**. *Tuberous Sclerosis Complex*.

***Krox20**. *Krüppel and homeobox domain-containing factor 20*.

***TORC**. *Tor Complex*.

BIBLIOGRAPHIE

Pénétration, sécrétion et mode d'action de l'insuline

Humbel RE. Insulin-like growth factors I and II. *Eur J Biochem* 1990; **190**: 445-62.

Kanzaki M, Pessin JE. Insulin signaling: GLUT4 vesicles exit via the exocyst. *Curr Biol* 2003; **13**: R574-6.

Lang J. Molecular mechanisms and regulation of insulin exocytosis as a paradigm of endocrine secretion. *Eur J Biochem* 1999; **259**: 3-17.

Croissance cellulaire

Dorrello NV, Peschiaroli A, Guardavaccaro D, Colburn NH, Sherman NE, Pagano M. S6-K1- and β TRCP-mediated degradation promotes protein translation and cell growth. *Science* 2006; **314**: 467-71<;

Gonzalez FJ. Getting fat: two new players in molecular adipogenesis. *Cell Metabol* 2005; **1**: 85-6.

Rosen ED, Spiegelman B. Molecular regulation of adipogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2000; **16**: 145-71.

Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; **414**: 799-806

Protéines FoxO et Tor

Brunet A. Les multiples implications des facteurs de transcription FOXO. *Med Sci* 2004; **10**: 856-9.

Hay H, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTor. *Genes Dev* 2004; **18**: 1926-45.

Le Bacquer O, Martineau Y, Mamane Y. Quand la traduction sort de sa TORpeur. *Med Sci* 2006; **22**: 514-8.

Mayer C, Zhao J, Yuan X, Grummt I. mTOR-dependent activation of the transcription factor TIF-IA links rRNA synthesis to nutrient availability. *Genes Dev* 2004; **18**: 423-34.

Voies de transduction

Bar-Sagi D, Hall A. Ras and Rho GTPases: a family reunion. *Cell* 2000; **103**: 227-38.

Capeau J. Voies de signalisation par l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-dépendance. *Med Sci* 2005 ; **21**: 34-9.

Shaulian E, Karin M. AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nature Cell Biol* 2002; **4**: E131-6.

Yenush L, White MF. The IRS-signalling system during insulin and cytokin action. *BioEssays* 1997; **19**: 491-500.