



Le récepteur de la dioxine : rôle endogène et médiateur de la toxicité de la dioxine

Aline Chevallier, Linh-Chi Bui, Xavier Coumoul

► To cite this version:

Aline Chevallier, Linh-Chi Bui, Xavier Coumoul. Le récepteur de la dioxine : rôle endogène et médiateur de la toxicité de la dioxine. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 2011, 46 (2), pp.67-74. 10.1016/j.cnd.2011.01.002 . hal-02190797

HAL Id: hal-02190797

<https://hal.science/hal-02190797>

Submitted on 22 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Titre : Le récepteur de la dioxine : rôle endogène et médiateur de la toxicité de la dioxine

Title: the Ah receptor: endogenous roles and dioxin-mediated toxicities

Prénom et nom des auteurs : Aline Chevallier*, Linh-Chi Bui*, Xavier Coumoul (* : Contribution équivalente)

Adresse du laboratoire (tous les auteurs) : INSERM UMR-S 747, Toxicologie, Pharmacologie et Signalisation cellulaire, Université Paris Descartes, 45 rue des Saints-Pères, 75006 PARIS

Adresse et coordonnées du responsable de la correspondance : INSERM UMR-S 747, Toxicologie, Pharmacologie et Signalisation cellulaire, Université Paris Descartes, 45 rue des Saints-Pères, 75006 PARIS ; téléphone : +33142863359 ; fax : +33142863868 ; courriel : xavier.coumoul@parisdescartes.fr

Introduction

Polluants environnementaux et xénobiotiques

Les populations des pays industrialisés et celles de pays en voie de développement sont communément exposées à divers polluants environnementaux. Ces expositions peuvent être aiguës (ex : marée noire d'hydrocarbures, empoisonnements) ou chroniques (ex : contamination des sols et produits de l'agriculture par utilisation à faible dose mais régulière de pesticides). Ces contaminations posent la question de leur influence sur les écosystèmes et leurs populations notamment en terme de santé publique. Une autre problématique majeure engendrée par ces pollutions est la persistance de certains de ces contaminants dans l'environnement. En effet, si un nombre important de ces molécules peut être métabolisé par des enzymes de détoxification (appelées « enzymes du métabolisme des xénobiotiques¹ » ou EMX) produites par divers organismes, un certain nombre d'entre elles présente à la fois une résistance à la biotransformation et une hydrophobicité qui conduisent toutes deux, à leur stockage progressif dans les tissus adipeux, avec des demi-vies associées de plusieurs années [1-3]. Ainsi, une exposition à ces « polluants organiques persistants » ou POPs peut conduire à une exposition chronique, le tissu adipeux jouant à la fois un rôle protecteur (« éponge » captant ces molécules, « épargnant » les autres tissus) et de libération continue. De nombreux pays ont signé un accord international plus connu sous le terme « convention de Stockholm » pour formaliser une liste (régulièrement mise à jour) de produits considérés comme des POPs et dont l'usage doit être interdit (<http://chm.pops.int/Convention/ThePOPs/tabid/673/language/en-US/Default.aspx>). Comme dit précédemment, les xénobiotiques non-POPs peuvent être modifiés chimiquement par une batterie d'enzymes appelée EMX. Le niveau d'expression de ces protéines est finement régulé au niveau transcriptionnel par des récepteurs aux xénobiotiques dont le AhR dont nous allons parler dans cet exposé.

Exposé

Existence de récepteurs aux xénobiotiques et découverte du récepteur Ah (AhR pour Aryl hydrocarbon Receptor)

Bien que des centaines de milliers de xénobiotiques puissent être dénombrées, la première étape conduisant à leur métabolisme au sein des organismes exposés dépend de seulement quelques récepteurs intracellulaires (appelés récepteurs de xénobiotiques) : PXR (Pregnane X Receptor, reconnaissant plus de 60% des médicaments), CAR (Constitutive Androstane Receptor) et AhR (Aryl hydrocarbon Receptor) sont considérés comme les 3 grands récepteurs de xénobiotiques compte tenu de l'absence de ligands endogènes clairement identifiés pour ces protéines (de nombreuses molécules endogènes lient le AhR, mais leur importance d'un point de vue physiologique est discuté à la fois en raison de problèmes liés à leur constante de dissociation et à leur synthèse locale) [4]. A cette liste, peuvent être rajoutées d'autres protéines comme par exemple les récepteurs PPAR alpha (Peroxisome proliferator-activated receptor) et ERs (Estrogen Receptors) décrits historiquement comme

¹ Xénobiotiques : petites molécules étrangères à l'organisme susceptibles d'exercer une toxicité sur les organismes exposés)

possédant un ligand endogène (ex : les œstrogènes pour les ERs) mais identifiés depuis quelques temps comme récepteurs de xénobiotiques (phtalates pour le PPAR alpha ou certaines pesticides pour les ERs) [5-8]. Il est donc délicat de définir strictement une catégorie de récepteurs aux xénobiotiques mais tous possèdent une caractéristique commune : ils agissent comme des facteurs de transcription.

A ce titre, le récepteur Ah ou AhR a été découvert dans les années 90s. L'existence d'un locus Ah a été décrite à la fin des années 70 et au début des années 80s notamment par l'équipe de D.W. Nebert qui évoquait alors l'existence d'un ensemble de gènes contrôlant l'induction d'enzymes à activité « aryl hydroxylase » [9]. L'identification des acteurs de la voie de signalisation se fera au début des années 90 avec le clonage à la fois du AhR et de son partenaire ARNT (AhR Nuclear Translocator) [10, 11]. Tous deux appartiennent à la famille des protéines PAS (Per – ARNT – Sim) dont un grand nombre d'acteurs est impliqué dans le contrôle du rythme circadien chez la Drosophile [12-15]. Le AhR a depuis été identifié à la fois chez les invertébrés (où son expression est neuronale [16-19] et chez les vertébrés (où son expression est ubiquitaire) [20, 21]. La fonction de récepteurs aux xénobiotiques a été acquise au cours de l'évolution car les récepteurs des invertébrés étudiés jusqu'à présent (AhR-1 chez les nématodes, Spineless chez la drosophile) ne lient pas de xénobiotiques [22]. Contrairement aux récepteurs PXR et CAR (Constitutive Androstane Receptor) qui appartiennent à la famille des récepteurs nucléaires [23-25], le AhR est un membre de la famille bHLH (basic Helix Loop Helix)/PAS [10, 26, 27]; sa structure par domaines est présentée sur la figure 1A.

Le AhR est présenté généralement comme formant un complexe cytoplasmique avec des chaperonnes et des co-chaperonnes (Heat Shock Proteines 70 et 90 ; XAP2 ou X associated Protein ; p23, [28-31]. Quand un organisme est exposé à un ligand du AhR (composants de la fumée de cigarette, dioxines présentes dans notre alimentation, voir paragraphe ci-dessous), la liaison de ce dernier au récepteur provoque à la fois sa translocation dans le noyau et la dissociation du complexe [29]. Le AhR lie alors son partenaire ARNT et l'hétérodimère se lie à des éléments de réponse appelés XRE (Xenobiotic Responsive Element) localisés dans des promoteurs de gènes cibles (figure 1B) [20, 32]. Très logiquement, les équipes travaillant sur ce récepteur identifièrent dans un premier temps de nombreuses EMX comme gènes cibles (assurant le métabolisme du ligand du AhR selon un rétrocontrôle [33]) et définirent un grand nombre de ligands (la plupart, xénobiotiques) du AhR.

Le récepteur des dioxines est activé par de nombreux ligands, polluants environnementaux présents dans notre alimentation.

Le AhR est communément appelé récepteur aux « dioxines ». Ce terme fait faussement référence à de nombreux polluants organiques persistants dont les PCDDs (PolyChlorinated Dibenzo-p-dioxins, 75 au total), les PCDFs (PolyChlorinated Dibenzo-p-furanes, 135 congénères) et les PCBs (PolyChlorinated Biphenyls). Des facteurs d'équivalence toxique (TEF ou Toxic Equivalent Factor) leur ont été assignés pour comparer leur toxicité [34, 35]. Certains composés polybromés (PBDEs ou PolyBromoDiphenylEthers) peuvent aussi exercer des activités proches de celles des dioxines [35]. La toxicité de ces composés (qui, pour la plupart, lient le AhR) est très variable en fonction des espèces considérées en raison d'une grande variabilité de leur constance de dissociation vis à vis du AhR (Kd) [36].

Contrairement aux PCBs qui furent très utilisés dans l'industrie en raison de leur grande stabilité (résistance à la pression, stabilité chimique, composés non inflammables et non conducteurs), les PCDDs et PCDFs sont presque toujours synthétisés involontairement notamment au cours de combustions incomplètes (incinérateurs municipaux) ou de processus industriels utilisant du chlore (blanchiment du papier, fabrication de PCBs ou de pesticides, recyclage de matériel électronique, ..). En raison de cette grande stabilité physico-chimique, les PCDDs et PCDFs sont des POPs dont la bioaccumulation peut s'étendre sur plusieurs décennies. Peu de microorganismes sont capables de les métaboliser efficacement [37]. Au niveau du compartiment biotique, la position des organismes dans la chaîne alimentaire influence le niveau de contamination (qui est plus élevé en haut de chaîne) mais n'est pas le seul élément; ainsi, le régime alimentaire joue un rôle fondamental (ex : oiseaux ne consommant que des poissons eux-mêmes contaminés). Le risque de contamination chez l'Homme est ainsi moins important que d'autres espèces bien qu'en position élevée dans la chaîne alimentaire.

Au niveau des écosystèmes et des aliments, les niveaux de POPs sont très variables en fonction des régions et des activités de ces dernières (industrielles, agricoles, ...). L'histoire de certains pays est également directement liée à ces niveaux (ex : guerre du Vietnam et utilisation de l'agent Orange comme défoliant contenant de très grandes quantités de dioxines) [38]. Des accidents industriels ont aussi été à l'origine de contaminations importantes des populations environnantes (ex : dioxine et Seveso en Italie) [39]. Des contaminations volontaires ont également été observées (ex : le président ukrainien V. Yushchenko en 2004 pendant la campagne présidentielle). Toutefois, l'essentiel des contaminations se fait via l'alimentation et notamment les produits laitiers, la viande et le poisson (en moyenne, 1-2 pg/kg/jour de PCDDs ou PCBs à activité dioxine dans la plupart des pays) [40-42]. Compte tenu de leurs importantes demi-vies et de leur accumulation dans les tissus adipeux, la quantité totale de dioxines peut augmenter de 5 à 10 fois chez un individu entre 20 et 60 ans et ce bien que les quantités rejetées dans l'environnement tendent à diminuer depuis les années 70 en raison de contrôles de plus en plus stricts [43, 44]. Cette tendance peut notamment être observée par mesures des concentrations dans le lait maternel [45-49].

L'alimentation n'est pas qu'une source de « ligands AhR contaminants ». Des études récentes ont permis de montrer qu'un certain nombre de composés naturels de notre alimentation (fruits, thé, vin, légumes) sont aussi des ligands du récepteur; c'est le cas de certains flavonoïdes (flavones, flavonols, flavanones, catéchines, isoflavones, anthocyanines, chalcones), indigoïdes, caroténoïdes, rétinoïdes, polyphénols (curcumine, resvératrol)[50]. De nombreuses études ont montré que ces derniers pouvaient jouer à la fois le rôle d'agonistes ou d'antagonistes du récepteur Ah. Toutefois, les concentrations sanguines mesurées de ces composés laissent plutôt supposer une action antagoniste (vis à vis des contaminants type PCDDs ou PCBs) [50]. Un autre facteur important à prendre en compte est leur métabolisme important (impliquant notamment des EMX) conduisant pour certains à leur inactivation. L'hydrophobicité, la pharmacocinétique de ces composés dans l'organisme sont donc des facteurs importants à prendre en compte pour mesurer leur efficacité en tant que ligands du AhR (et compétiteurs vis à vis des polluants environnementaux) et étudier leur éventuel bénéfice pour les organismes consommateurs notamment en tant qu'antagonistes des PCDDs, PCDFs ou PCBs.

Rôles du AhR : protection vs toxicité de ses ligands

Historiquement, le AhR et son partenaire ARNT ont été caractérisés comme des régulateurs transcriptionnels de plusieurs enzymes et transporteurs du métabolisme des hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP) et/ou halogénés (HAH) et des polychlorobiphényles (PCB). Compte tenu de la toxicité et de la réactivité des certains de ces composés (réactivité chimique vis à vis de macromolécules comme les protéines ou l'ADN avec pour conséquence l'apparition de mutations [51]), cette voie de signalisation a été décrite comme permettant l'élimination de ces xénobiotiques détectés par le AhR (en tant que ligands) d'où le terme associé de « détoxification ». Toutefois, ce modèle doit être nuancé par le fait que certains de ces composés peuvent être transformés par les EMX en des intermédiaires plus réactifs. Le cas le plus classiquement décrit est celui du benzo(a)pyrène (BaP, un HAP) dont le métabolisme par le cytochrome P450 1A1 et l'époxyde hydrolase (2 EMX) conduit à la formation d'un composé intermédiaire diol-époxyde hautement mutagène (d'où le terme associé d' « activation ») [52]; cet intermédiaire peut toutefois être pris en charge par des EMX de phase II (dont certaines également régulées par le AhR) ce qui limite sa toxicité. La carcinogénicité du benzo(a)pyrène dépend donc d'un équilibre entre activités et niveaux d'expression de l'ensemble de ces enzymes qui n'est pas équivalent entre deux individus (polymorphismes) [53].

En plus de ce double rôle (détoxification vs activation), certaines EMX peuvent également conduire à l'apparition d'un stress oxydant [54]. Le benzo(a)pyrène (BaP, substrat du AhR et inducteur du CYP1A1) est ainsi un substrat découplant du CYP1A1 : au sein du site actif de l'enzyme, le BaP entraîne dans 70% des réactions, une utilisation « biaisée » du dioxygène conduisant à la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et à un stress oxydant. Le rôle de ce dernier dans certaines pathologies est clairement évoqué (vieillesse, cancer, ..).

La toxicité des ligands du AhR dépend donc en grande partie de leur nature chimique. Ainsi, les HAP exercent une grande part de leur toxicité du fait de leur très haute réactivité chimique et par exemple de leur potentiel mutagène. Ce dernier dépend du phénomène d'activation préalablement décrit et donc de la régulation des enzymes impliquées dans cette activation. Le AhR joue donc une part non négligeable dans ces phénomènes. Ceci serait d'autant plus intéressant si on considère le cas hypothétique d'un cocktail de xénobiotiques contenant à la fois de bons ligands du AhR (dioxines) et des substrats du CYP1A1 (HAPs) où la présence des dioxines par activation de l'expression des EMX augmenterait considérablement la toxicité des HAPs. Le terme hypothétique doit être nuancé par le fait que la plupart des études menées sur les xénobiotiques ne concernent pas les mélanges (cocktails) alors que ces derniers constituent en fait une réalité environnementale. La présence conjointe des dioxines et des HAPs dans l'environnement est donc loin d'être une simple hypothèse.

La toxicité des ligands du AhR passe également par l'activation simple de ce récepteur comme le montrent les études animales et épidémiologiques sur les effets *in vivo* des dioxines (stables chimiquement et qui n'exercent leur action que via le récepteur) : chez l'Homme, les données sont certes limitées (études chez des personnes exposés accidentellement ou volontairement) ; une contamination aigue conduit le plus souvent à une chloracné (manifestation dermatologique) [55]. Des troubles du développement ont été également relevés (minéralisation du squelette, émail dentaire, retard de croissance intra-utérin ou de développement sexuel, dysfonctions neurologiques) [56]. D'autres effets sanitaires sont également possibles mais restent insuffisamment

documentés (hépatotoxicité, troubles du métabolisme lipidique, diabète, effets immunologiques,...) [57]. La formation des cancers reste l'effet le plus controversé d'autant que l'exposition aux dioxines est rarement individuelle et plutôt le fait de cocktails de xénobiotiques. L'IARC (International Agency for Research on Cancer) a classé la dioxine de Seveso comme carcinogène de type I en 1997 (<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol69/mono69-10.pdf>) sur la base des études chez l'animal et de nouvelles données épidémiologiques chez l'Homme mais des études plus récentes semblent contrebalancer cette définition. La dioxine semble exercer un effet notable sur les cancers hématologiques (lymphomes, myélomes) [58]. L'utilisation des modèles animaux a permis de mieux caractériser la toxicité des dioxines (et donc celle liée à l'activation du AhR) : diminution du poids des animaux, hépatotoxicité, inflammation, hyper- ou hypo-plasies, atrophie thymique, anomalies du développement (fente palatine), cancérogénicité (notamment chez les rongeurs [59, 60]). Plusieurs laboratoires dont le notre ont montré que le AhR régule les phénomènes de migration et d'invasion cellulaire [61]. Ceci est à mettre en parallèle avec les défauts de développement observés chez les animaux traités par la dioxine, qui impliquent ces phénomènes.

L'ensemble de ces résultats n'est pas facilement transposable à toutes les espèces dont l'Homme en raison des différences d'affinité forte entre les isoformes de récepteurs. De plus, malgré cette caractérisation descriptive des pathologies associées à une exposition aux dioxines, peu de données sont encore connues pour expliquer d'un point de vue mécanistique (rôles des gènes dont l'expression est modulée), cette toxicité induite par le AhR. Une des récentes hypothèses est que l'effet des ligands pourrait aussi être lié à une perturbation des fonctions endogènes du récepteur.

Un rôle endogène pour le AhR ?

Historiquement, le AhR a été décrit comme un récepteur de xénobiotiques mais des observations ou expériences récentes menées dans plusieurs laboratoires laissent entendre que ce dernier est impliqué dans plusieurs autres fonctions biologiques : le récepteur est très conservé entre les espèces et exprimé très tôt au cours du développement embryonnaire dans plusieurs tissus. Toutefois, les arguments les plus convaincants proviennent des modèles de recombinaison homologe ou « Knock out » (KO) : en plus des vertébrés (oiseau, amphibiens, poissons, mammifères), le AhR est exprimé chez les invertébrés comme *Caenorhabditis elegans* (nématode) et *Drosophila melanogaster* (mouche) [62]. Chez *C. elegans*, AhR-1 possède 38% d'identité (acides aminés) avec le AhR humain dans sa partie N-terminale, impliquée dans la liaison à l'ADN, aux ligands, aux chaperonnes et la dimérisation [63]. Spineless, l'orthologue chez la drosophile, possède 71% et 45% d'homologie avec l'isoforme humaine pour les domaines bHLH et PAS, respectivement. A l'inverse des AhR de vertébrés, AhR-1 et Spineless ne lient aucun ligand exogène (TCDD ou β -naphthoflavone) et ne régulent aucune enzyme du métabolisme des xénobiotiques [22]. Un acide aminé (arginine 346) absent du domaine de liaison au ligand chez les isoformes d'invertébrés et présent chez les isoformes de vertébrés semble être impliqué dans cette spécificité [64]. Ceci n'exclut toutefois pas une liaison éventuelle de ligands endogènes. Le reste de la voie de signalisation est conservée avec une hétérodimérisation aux orthologues d'ARNT et une liaison aux XREs (Xenobiotic Responsive Element). Quel est le rôle du AhR chez les invertébrés si ce dernier ne participe pas au métabolisme des xénobiotiques ?

- chez *C. elegans*, AhR-1 est exprimé spécifiquement dans plusieurs neurones. Chez l'animal KO, plusieurs déficits neurologiques sont ainsi observés (différenciation moins importante, déficit de migration neuronale et d'élongation axonale). Par exemple, Huang et al ont démontré que AhR-1 est impliqué dans la différenciation GABAergique de motoneurones innervant les muscles de la tête [16]. Sur le plan phénotypique, Qin et al. ont aussi montré le rôle du récepteur dans le comportement social alimentaire du nématode [17, 18]. La perte spécifique de AhR-1 dans 4 neurones (AQR, PQR, URXR and URXL qui innervent le pseudocœlome) provoque un déficit de l'agrégation des vers autour du point de nourriture [63]. Cet effet est lié au contrôle transcriptionnel indirect de AhR-1 sur NRP-1 (un récepteur aux neuropeptides couplés aux protéines G) et plusieurs membres de la famille des guanylate cyclases.
- Chez *D. melanogaster*, Spineless est exprimé dans plusieurs tissus pendant le développement embryonnaire et joue un rôle central dans la morphologie du système nerveux central et l'architecture des ommatidies qui assurent la vision chez cet animal [65]. Duncan et al. montrent que des mutations de Spineless altèrent la différenciation de la région distale de l'antenne (qui est substituée pour un segment distal de jambe).

L'ensemble de ces observations prouve que le AhR joue un rôle dans le développement embryonnaire chez les invertébrés. Toutefois, le mécanisme d'activation du récepteur reste mal caractérisé. Certaines interrogations demeurent aussi chez les vertébrés : chez les poissons, plusieurs isoformes sont exprimées (2 à 6 en fonction des espèces) contrairement aux mammifères [66]. Ainsi, chez le poisson zèbre, il existe 3 AhR [66-68]:

- AhR1a qui ne lie pas de ligands exogènes (TCDD ou β -naphtoflavone) et dont la fonction est mal caractérisée. Son expression est spécifique du cerveau, du cœur et de la gonade.
- AhR1b, récemment identifié (Karchner et al., 2005), exprimé très tôt dans le développement et proche structurellement et fonctionnellement de la troisième isoforme :
- AhR2, ubiquitaire et proche fonctionnellement du AhR de mammifères

Ce nombre important d'isoformes est probablement le fait d'une duplication génomique (Hahn et al.). Leur rôle demeure insuffisamment compris dans l'ensemble (redondance, rôle spécifique au sein de l'espèce, conservation des rôles chez les vertébrés). Chez les vertébrés, le gène a été invalidé chez la souris (*Mus musculus*) dans trois laboratoires indépendants (AhR KO) (exon 1 (domaine basique du bHLH), [69] ; exon 1, [70] ; exon 2 (bHLH), [71]). Ces trois modèles présentent des similarités phénotypiques (résistance à la toxicité de la TCDD, infertilité, développement hépatique anormal, déficit de croissance, anomalies du développement du système cardiovasculaire) et des différences (léthalité importante pour les modèles invalidés au niveau de l'exon 1 avec pour le groupe de F. Gonzalez, un déficit immunitaire conduisant à une surinfection par *Helicobacter pylori* [72]).

Toutes ces études suggèrent que le AhR pourrait être actif en l'absence de ligands exogènes. La découverte de ligands endogènes constitue donc une voie de recherche majeure pour la compréhension des mécanismes régulés par cette protéine. Plusieurs molécules ont été identifiées comme ligands endogènes potentiels : les métabolites de l'acide arachidonique (lipoxanthine A2), de l'hème (bilirubine, biliverdine), du tryptophane (indigoïdes) [4]. Le 6-formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ), un dérivé du

tryptophane, lie le AhR avec une très haute affinité ($K_d = 0.07 \text{ nM}$; $K_d_{\text{TCDD}} = 0.48 \text{ nM}$) [73, 74] et active l'expression du cytochrome P450 1A1 (qui le métabolise par ailleurs). FICZ est produit *in vivo* par l'Homme, des métabolites se retrouvant dans les urines [75]. Sa production par irradiation UV est toutefois locale et rien n'atteste que cette molécule active le AhR dans l'ensemble des tissus de l'organisme. La présence d'autres activateurs a été identifiée dans des échantillons de sérums bovins et humains [65, 76, 77]. Une étude récente a montré que les LDL oxydés pouvaient activer le AhR tout comme le 7-kétocholestérol (7KC), un produit majeur de l'oxydation du cholestérol agissant comme un antagoniste sur l'induction du cytochrome P450 1A1 par la TCDD [78]. Ces études sont concordantes avec celles démontrant le rôle physiologique du AhR sur le système cardiovasculaire [65, 76, 77].

Perspectives

Si la toxicité des dioxines et la voie de signalisation du AhR sont bien connues, la compréhension des mécanismes d'action du récepteur est encore loin d'être élucidée. Ceci présente un intérêt pour la compréhension des phénotypes observés en cas d'intoxication mais aussi pour la définition de nouvelles cibles afin de contrer cette toxicité. Une autre difficulté de la recherche en toxicologie est de caractériser précisément les niveaux d'exposition des populations. La plupart des personnes sont ainsi contaminées de manière chronique, par des mélanges de xénobiotiques, et à faible dose. Il est difficile de réaliser des modélisations équivalentes sur l'animal chez qui se pose également le problème des différences d'affinité du récepteur. Des modèles de rongeurs exprimant des récepteurs humains (souris humanisées) ont été développés [79] mais leur utilisation reste délicate. De plus, la sensibilité d'une espèce varie grandement en fonction de l'âge. Un défi majeur en toxicologie est celui de prédire les contaminations et le niveau de ces dernières (toxicologie « prédictive ») par le développement de biomarqueurs d'exposition et de réponse. Enfin, les récepteurs des xénobiotiques jouent un rôle majeur dans la toxicité de ces derniers. Une meilleure compréhension de leur mode d'action notamment de leurs fonctions endogènes s'avère nécessaire, ne serait ce que pour définir si leur liaison à des xénobiotiques conduit à une dérégulation de ces fonctions.

Encadré (à retenir)

De nombreux hydrocarbures (aromatiques, halogénés, ...) sont des contaminants de notre alimentation. Les principales familles de ces contaminants sont les dioxines, les furanes, les polychlorobiphényles, les retardateurs de flamme polybromés, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (benzo(a)pyrène). Chez les vertébrés, un grand nombre de ces xénobiotiques lient et activent un récepteur appelé AhR pour Aryl hydrocarbon Receptor qui, via un mécanisme transcriptionnel, régule l'expression de nombreux gènes. Historiquement, des enzymes du métabolisme des xénobiotiques (EMX) ont été identifiées comme cibles du AhR. Ce mécanisme assure notamment la détoxification de la plupart des xénobiotiques décrits ci-dessus, par augmentation de leur métabolisme. Des études récentes ont montré que cette voie de signalisation pouvait aussi engendrer une toxicité (par exemple, par augmentation du stress oxydant ou par formation de métabolites hautement réactifs vis à vis de l'ADN ou des protéines). Par ailleurs, de nouvelles cibles transcriptionnelles du AhR autres que les EMX ont été mises en évidence ; ces études ont permis de montrer que le récepteur jouait un rôle

important dans la migration cellulaire. L'activation du AhR pourrait ainsi être impliquée dans la dérégulation de phénomènes physiologiques (développement) et physiopathologiques (métastases cancéreuses). Ces observations sont à mettre en parallèle à celles menées sur les fonctions endogènes du récepteur. Des expériences de recombinaison homologue menées sur différents modèles (souris, nématode, drosophile) ont permis de montrer que le AhR en l'absence de ligands, jouait un rôle important dans le développement embryonnaire.

Références bibliographiques

- [1] Flesch-Janys D, Becher H, Gurn P, Jung D, Konietzko J, Manz A, et al. Elimination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in occupationally exposed persons. *J Toxicol Environ Health* 1996;47:363-78.
- [2] Poiger H, Schlatter C. Influence of solvents and adsorbents on dermal and intestinal absorption of TCDD. *Food Cosmet Toxicol* 1980;18:477-81.
- [3] Wolfe WH, Michalek JE, Miner JC, Pirkle JL, Caudill SP, Patterson DG, Jr., et al. Determinants of TCDD half-life in veterans of operation ranch hand. *J Toxicol Environ Health* 1994;41:481-8.
- [4] Nguyen LP, Bradfield CA. The search for endogenous activators of the aryl hydrocarbon receptor. *Chem Res Toxicol* 2008;21:102-16.
- [5] Desvergne B, Feige JN, Casals-Casas C. PPAR-mediated activity of phthalates: A link to the obesity epidemic? *Mol Cell Endocrinol* 2009;304:43-8.
- [6] Feige JN, Gerber A, Casals-Casas C, Yang Q, Winkler C, Bedu E, et al. The pollutant diethylhexyl phthalate regulates hepatic energy metabolism via species-specific PPARalpha-dependent mechanisms. *Environ Health Perspect* 2010;118:234-41.
- [7] Kelce WR, Monosson E, Gray LE, Jr. An environmental antiandrogen. *Recent Prog Horm Res* 1995;50:449-53.
- [8] Steinmetz R, Young PC, Caperell-Grant A, Gize EA, Madhukar BV, Ben-Jonathan N, et al. Novel estrogenic action of the pesticide residue beta-hexachlorocyclohexane in human breast cancer cells. *Cancer Res* 1996;56:5403-9.
- [9] Poland AP, Glover E, Robinson JR, Nebert DW. Genetic expression of aryl hydrocarbon hydroxylase activity. Induction of monooxygenase activities and cytochrome P1-450 formation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice genetically "nonresponsive" to other aromatic hydrocarbons. *J Biol Chem* 1974;249:5599-606.
- [10] Burbach KM, Poland A, Bradfield CA. Cloning of the Ah-receptor cDNA reveals a distinctive ligand-activated transcription factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:8185-9.
- [11] Hoffman EC, Reyes H, Chu FF, Sander F, Conley LH, Brooks BA, et al. Cloning of a factor required for activity of the Ah (dioxin) receptor. *Science* 1991;252:954-8.
- [12] Bargiello TA, Jackson FR, Young MW. Restoration of circadian behavioural rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature* 1984;312:752-4.
- [13] Zehring WA, Wheeler DA, Reddy P, Konopka RJ, Kyriacou CP, Rosbash M, et al. P-element transformation with period locus DNA restores rhythmicity to mutant, arrhythmic *Drosophila melanogaster*. *Cell* 1984;39:369-76.
- [14] Sassone-Corsi P. Molecular clocks. PERpetuating the PAST. *Nature* 1997;389:443-4.

- [15] McIntosh BE, Hogenesch JB, Bradfield CA. Mammalian Per-Arnt-Sim proteins in environmental adaptation. *Annu Rev Physiol* 2010;72:625-45.
- [16] Huang X, Powell-Coffman JA, Jin Y. The AHR-1 aryl hydrocarbon receptor and its co-factor the AHA-1 aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator specify GABAergic neuron cell fate in *C. elegans*. *Development* 2004;131:819-28.
- [17] Qin H, Powell-Coffman JA. The *Caenorhabditis elegans* aryl hydrocarbon receptor, AHR-1, regulates neuronal development. *Dev Biol* 2004;270:64-75.
- [18] Qin H, Zhai Z, Powell-Coffman JA. The *Caenorhabditis elegans* AHR-1 transcription complex controls expression of soluble guanylate cyclase genes in the URX neurons and regulates aggregation behavior. *Dev Biol* 2006;298:606-15.
- [19] Wernet MF, Mazzoni EO, Celik A, Duncan DM, Duncan I, Desplan C. Stochastic spineless expression creates the retinal mosaic for colour vision. *Nature* 2006;440:174-80.
- [20] Dolwick KM, Swanson HI, Bradfield CA. In vitro analysis of Ah receptor domains involved in ligand-activated DNA recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:8566-70.
- [21] Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Eguchi H, Gotoh O, Kawajiri K. Interindividual difference in expression of human Ah receptor and related P450 genes. *Carcinogenesis* 1994;15:801-6.
- [22] Butler RA, Kelley ML, Powell WH, Hahn ME, Van Beneden RJ. An aryl hydrocarbon receptor (AHR) homologue from the soft-shell clam, *Mya arenaria*: evidence that invertebrate AHR homologues lack 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and beta-naphthoflavone binding. *Gene* 2001;278:223-34.
- [23] Bertilsson G, Heidrich J, Svensson K, Asman M, Jendeberg L, Sydow-Backman M, et al. Identification of a human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:12208-13.
- [24] Kliewer SA, Moore JT, Wade L, Staudinger JL, Watson MA, Jones SA, et al. An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway. *Cell* 1998;92:73-82.
- [25] Escriva H, Delaunay F, Laudet V. Ligand binding and nuclear receptor evolution. *Bioessays* 2000;22:717-27.
- [26] Ema M, Sogawa K, Watanabe N, Chujoh Y, Matsushita N, Gotoh O, et al. cDNA cloning and structure of mouse putative Ah receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;184:246-53.
- [27] Fukunaga BN, Probst MR, Reisz-Porszasz S, Hankinson O. Identification of functional domains of the aryl hydrocarbon receptor. *J Biol Chem* 1995;270:29270-8.
- [28] Petrusis JR, Perdew GH. The role of chaperone proteins in the aryl hydrocarbon receptor core complex. *Chem Biol Interact* 2002;141:25-40.
- [29] Heid SE, Pollenz RS, Swanson HI. Role of heat shock protein 90 dissociation in mediating agonist-induced activation of the aryl hydrocarbon receptor. *Mol Pharmacol* 2000;57:82-92.
- [30] Ramadoss P, Perdew GH. The transactivation domain of the Ah receptor is a key determinant of cellular localization and ligand-independent nucleocytoplasmic shuttling properties. *Biochemistry* 2005;44:11148-59.
- [31] Kazlauskas A, Poellinger L, Pongratz I. Evidence that the co-chaperone p23 regulates ligand responsiveness of the dioxin (Aryl hydrocarbon) receptor. *J Biol Chem* 1999;274:13519-24.

- [32] Whitlock JP, Jr. Induction of cytochrome P4501A1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999;39:103-25.
- [33] Xu C, Li CY, Kong AN. Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. *Arch Pharm Res* 2005;28:249-68.
- [34] Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld AT, Brunstrom B, Cook P, Feeley M, et al. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 1998;106:775-92.
- [35] Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, et al. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 2006;93:223-41.
- [36] Poland A, Glover E, Kende AS. Stereospecific, high affinity binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by hepatic cytosol. Evidence that the binding species is receptor for induction of aryl hydrocarbon hydroxylase. *J Biol Chem* 1976;251:4936-46.
- [37] Gibson R, Wang MJ, Padgett E, Beck AJ. Analysis of 4-nonylphenols, phthalates, and polychlorinated biphenyls in soils and biosolids. *Chemosphere* 2005;61:1336-44.
- [38] Stellman JM, Stellman SD, Weber T, Tomasallo C, Stellman AB, Christian R, Jr. A geographic information system for characterizing exposure to Agent Orange and other herbicides in Vietnam. *Environ Health Perspect* 2003;111:321-8.
- [39] Pesatori AC, Consonni D, Bachetti S, Zocchetti C, Bonzini M, Baccarelli A, et al. Short- and long-term morbidity and mortality in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident". *Ind Health* 2003;41:127-38.
- [40] Kiviranta H, Tuomisto JT, Tuomisto J, Tukiainen E, Vartiainen T. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in the general population in Finland. *Chemosphere* 2005;60:854-69.
- [41] Patterson DG, Jr., Turner WE, Caudill SP, Needham LL. Total TEQ reference range (PCDDs, PCDFs, cPCBs, mono-PCBs) for the US population 2001-2002. *Chemosphere* 2008;73:S261-77.
- [42] Schecter A, Papke O, Tung KC, Joseph J, Harris TR, Dahlgren J. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the U.S. population: current levels, temporal trends, and comparison with dioxins, dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls. *J Occup Environ Med* 2005;47:199-211.
- [43] Furst P. Dioxins, polychlorinated biphenyls and other organohalogen compounds in human milk. Levels, correlations, trends and exposure through breastfeeding. *Mol Nutr Food Res* 2006;50:922-33.
- [44] Lignell S, Aune M, Darnerud PO, Cnattingius S, Glynn A. Persistent organochlorine and organobromine compounds in mother's milk from Sweden 1996-2006: compound-specific temporal trends. *Environ Res* 2009;109:760-7.
- [45] Noren K, Meironyte D. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20-30 years. *Chemosphere* 2000;40:1111-23.
- [46] Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, et al. Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 127 elderly residents in Nakagawa Town, Fukuoka Prefecture, Japan. *Chemosphere* 2008;73:865-72.

- [47] Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, et al. Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere* 2008;73:923-31.
- [48] Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, et al. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from 60 mothers in Sapporo City, Japan. *Chemosphere* 2008;72:1152-8.
- [49] Abballe A, Ballard TJ, Dellatte E, di Domenico A, Ferri F, Fulgenzi AR, et al. Persistent environmental contaminants in human milk: concentrations and time trends in Italy. *Chemosphere* 2008;73:S220-7.
- [50] Ashida H, Nishiumi S, Fukuda I. An update on the dietary ligands of the AhR. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2008;4:1429-47.
- [51] Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs): mutagenicity and carcinogenicity. *Mutat Res* 1989;220:31-47.
- [52] Stansbury KH, Flesher JW, Gupta RC. Mechanism of aralkyl-DNA adduct formation from benzo[a]pyrene in vivo. *Chem Res Toxicol* 1994;7:254-9.
- [53] Rojas M, Cascorbi I, Alexandrov K, Kriek E, Auburtin G, Mayer L, et al. Modulation of benzo[a]pyrene diol-epoxide-DNA adduct levels in human white blood cells by CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphism. *Carcinogenesis* 2000;21:35-41.
- [54] Zangar RC, Davydov DR, Verma S. Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;199:316-31.
- [55] Bradshaw TD, Bell DR. Relevance of the aryl hydrocarbon receptor (AhR) for clinical toxicology. *Clin Toxicol (Phila)* 2009;47:632-42.
- [56] Pelclova D, Urban P, Preiss J, Lukas E, Fenclova Z, Navratil T, et al. Adverse health effects in humans exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Rev Environ Health* 2006;21:119-38.
- [57] Pohjanvirta R, Tuomisto J. Short-term toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in laboratory animals: effects, mechanisms, and animal models. *Pharmacol Rev* 1994;46:483-549.
- [58] Bertazzi PA, Zocchetti C, Guercilena S, Consonni D, Tironi A, Landi MT, et al. Dioxin exposure and cancer risk: a 15-year mortality study after the "Seveso accident". *Epidemiology* 1997;8:646-52.
- [59] Mann PC. Selected lesions of dioxin in laboratory rodents. *Toxicol Pathol* 1997;25:72-9.
- [60] Courtney KD, Moore JA. Teratology studies with 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 1971;20:396-403.
- [61] Bui LC, Tomkiewicz C, Chevallier A, Pierre S, Bats AS, Mota S, et al. Nedd9/Hef1/Cas-L mediates the effects of environmental pollutants on cell migration and plasticity. *Oncogene* 2009.
- [62] Hahn ME. Aryl hydrocarbon receptors: diversity and evolution. *Chem Biol Interact* 2002;141:131-60.
- [63] Powell-Coffman JA, Bradfield CA, Wood WB. *Caenorhabditis elegans* orthologs of the aryl hydrocarbon receptor and its heterodimerization partner the aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:2844-9.

- [64] Kudo K, Takeuchi T, Murakami Y, Ebina M, Kikuchi H. Characterization of the region of the aryl hydrocarbon receptor required for ligand dependency of transactivation using chimeric receptor between *Drosophila* and *Mus musculus*. *Biochim Biophys Acta* 2009;1789:477-86.
- [65] McMillan BJ, Bradfield CA. The aryl hydrocarbon receptor is activated by modified low-density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:1412-7.
- [66] Karchner SI, Franks DG, Hahn ME. AHR1B, a new functional aryl hydrocarbon receptor in zebrafish: tandem arrangement of *ahr1b* and *ahr2* genes. *Biochem J* 2005;392:153-61.
- [67] Tanguay RL, Andreasen E, Heideman W, Peterson RE. Identification and expression of alternatively spliced aryl hydrocarbon nuclear translocator 2 (ARNT2) cDNAs from zebrafish with distinct functions. *Biochim Biophys Acta* 2000;1494:117-28.
- [68] Tanguay RL, Abnet CC, Heideman W, Peterson RE. Cloning and characterization of the zebrafish (*Danio rerio*) aryl hydrocarbon receptor. *Biochim Biophys Acta* 1999;1444:35-48.
- [69] Fernandez-Salguero P, Pineau T, Hilbert DM, McPhail T, Lee SS, Kimura S, et al. Immune system impairment and hepatic fibrosis in mice lacking the dioxin-binding Ah receptor. *Science* 1995;268:722-6.
- [70] Mimura J, Fujii-Kuriyama Y. Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD. *Biochim Biophys Acta* 2003;1619:263-8.
- [71] Schmidt JV, Su GH, Reddy JK, Simon MC, Bradfield CA. Characterization of a murine Ahr null allele: involvement of the Ah receptor in hepatic growth and development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:6731-6.
- [72] Fernandez-Salguero PM, Ward JM, Sundberg JP, Gonzalez FJ. Lesions of aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice. *Vet Pathol* 1997;34:605-14.
- [73] Rannug A, Rannug U, Rosenkranz HS, Winqvist L, Westerholm R, Agurell E, et al. Certain photooxidized derivatives of tryptophan bind with very high affinity to the Ah receptor and are likely to be endogenous signal substances. *J Biol Chem* 1987;262:15422-7.
- [74] Wei YD, Helleberg H, Rannug U, Rannug A. Rapid and transient induction of CYP1A1 gene expression in human cells by the tryptophan photoproduct 6-formylindolo[3,2-b]carbazole. *Chem Biol Interact* 1998;110:39-55.
- [75] Wincent E, Amini N, Luecke S, Glatt H, Bergman J, Crescenzi C, et al. The suggested physiologic aryl hydrocarbon receptor activator and cytochrome P4501 substrate 6-formylindolo[3,2-b]carbazole is present in humans. *J Biol Chem* 2009;284:2690-6.
- [76] Conway DE, Sakurai Y, Weiss D, Vega JD, Taylor WR, Jo H, et al. Expression of CYP1A1 and CYP1B1 in human endothelial cells: regulation by fluid shear stress. *Cardiovasc Res* 2009;81:669-77.
- [77] Savouret JF, Berdeaux A, Casper RF. The aryl hydrocarbon receptor and its xenobiotic ligands: a fundamental trigger for cardiovascular diseases. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2003;13:104-13.
- [78] Savouret JF, Antenos M, Quesne M, Xu J, Milgrom E, Casper RF. 7-ketocholesterol is an endogenous modulator for the arylhydrocarbon receptor. *J Biol Chem* 2001;276:3054-9.
- [79] Flaveny CA, Perdew GH. Transgenic Humanized AHR Mouse Reveals Differences between Human and Mouse AHR Ligand Selectivity. *Mol Cell Pharmacol* 2009;1:119-23.

Résumé en français (1100 caractères max)

De nombreux polluants environnementaux sont des ligands du récepteur Ah ou AhR qui est un facteur transcriptionnel dont le rôle historiquement décrit était celui d'un régulateur de l'expression d'enzymes permettant justement l'élimination de ces polluants. Les dioxines et de nombreux autres hydrocarbures activent le récepteur et conduisent à une toxicité très variable des organismes exposés. Ces composés sont des contaminants de la chaîne alimentaire qui pour certains, s'accumulent dans les tissus adipeux. Un défi majeur de la toxicologie est de comprendre les mécanismes qui conduisent à ces toxicités. Des études récentes montrent que le AhR régule l'expression d'un grand nombre de gènes et que cette régulation peut aussi se faire en l'absence de ligands exogènes. Le but de cette revue d'articles est de présenter le récepteur et ses caractéristiques intrinsèques tout en abordant à la fois les problèmes de toxicité liés à une activation par des polluants mais aussi les nouvelles fonctions endogènes.

Mots clés (3-5) : AhR (récepteur Ah), polluants organiques persistants, dioxines, contaminants alimentaires, toxicologie.

Abstract

Many organic pollutants are ligands of the Aryl hydrocarbon Receptor (AhR), which is a transcriptional factor whose historical function was to regulate the expression of xenobiotic metabolizing enzymes involved in detoxication. Dioxins and aromatic hydrocarbons are ligands and activators of the AhR and lead to various toxicities on animal models. They contaminate the food chain and some of them can also accumulate in adipose tissues (namely the persistent organic pollutants). One critical challenge of toxicology is to define the mechanisms responsible for those toxicities. Recent studies also showed that the AhR regulate numerous genes sometimes without binding to a foreign compound. In this review, we will introduce the AhR and its ligands (exogenous and endogenous compounds) and present the toxicities related to the exposure to such molecules but also its endogenous functions.

Keywords (3-5) : AhR (Aryl hydrocarbon Receptor), persistent organic pollutants, dioxins, food contaminants, toxicology.

Remerciements : AFSSET (Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail); ANR (Agence Nationale de la Recherche, 06SEST26, Oncopop); ARC (Association pour la Recherche sur le Cancer); CNRS (Centre Nationale de la recherche scientifique) ; Fondation pour la Recherche Médicale; INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale); Ligue contre le Cancer; Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche; Région Ile de France; Université Paris Descartes.

Conflits d'intérêt : aucun

Structure du AhR

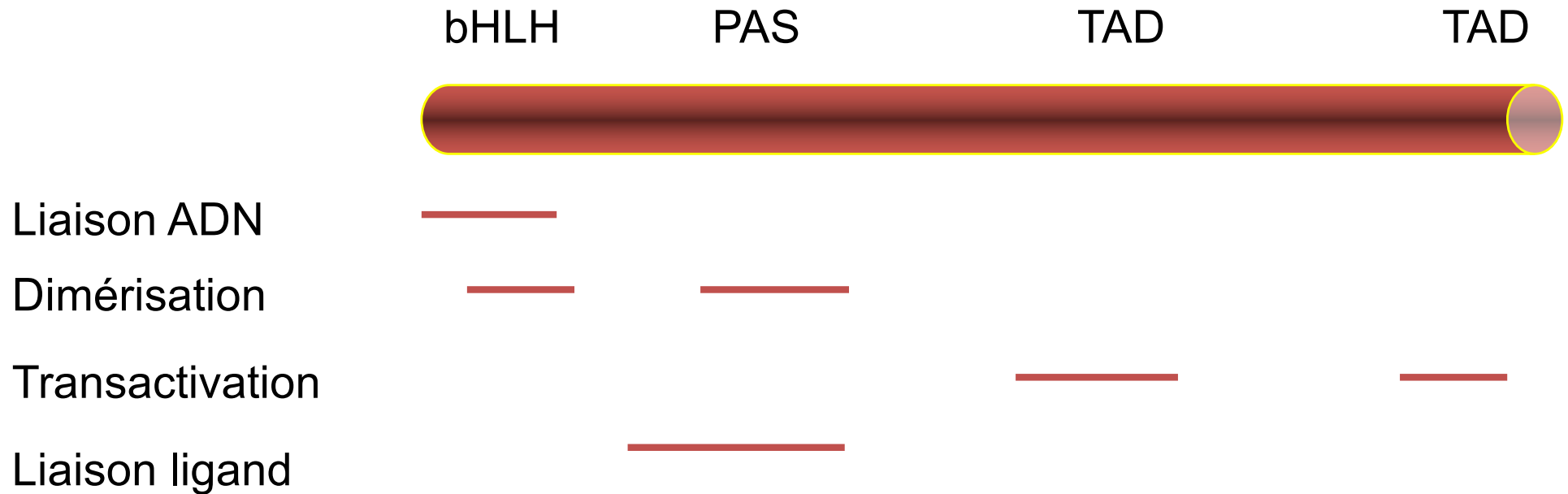
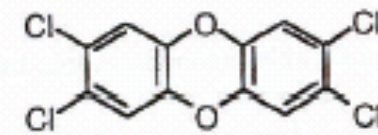


Figure 1A: le AhR appartient à la famille des protéines PAS (Per-ARNT-Sim). C'est un facteur transcriptionnel composé d'un domaine de liaison à l'ADN et de dimérisation (bHLH: basic Helix Loop Helix), d'un domaine de liaison des ligands (PAS) et d'un domaine de transactivation (localisé dans la partie C-terminale de la protéine).

Figure 1B: voie de signalisation du AhR (voir le texte)



2,3,7,8 Tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine
(TCDD ou "dioxine")

