



HAL
open science

Etude du rôle du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans le contrôle du métabolisme dans le foie et le tissu adipeux

Sandrine Caron

► **To cite this version:**

Sandrine Caron. Etude du rôle du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans le contrôle du métabolisme dans le foie et le tissu adipeux. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de lille, 2019. tel-04489320

HAL Id: tel-04489320

<https://hal.science/tel-04489320v1>

Submitted on 11 Mar 2024

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.

Habilitation à diriger des Recherches

**Soutenance
le 8 janvier 2019**

Sandrine CARON-HOUDE

Projet de recherche :

Etude du rôle du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans le contrôle du métabolisme dans le foie et le tissu adipeux

Laboratoire :

**Unité INSERM 1011, Institut Pasteur de Lille,
Université de Lille**

Directeur : Pr Bart STAELS

Membres du jury

Monsieur le Dr Jean-Sébastien ANNICOTTE	Rapporteur
Mme le Pr Pascale COHEN	Rapporteur
Mme le Dr Fabienne FOUFELLE	Rapporteur
Mme le Pr Sophie LESTAVEL	Examineur
Monsieur le Pr Bart STAELS	Examineur
Monsieur le Dr Benoît VIOLLET	Examineur

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier l'ensemble des membres de mon jury de HDR, Madame le Pr Pascale Cohen, Madame le Dr Fabienne Foufelle et M le Dr Jean-Sébastien Annicotte d'avoir accepté d'être rapporteurs de mon manuscrit de HDR et Madame le Pr Sophie Lestavel, Monsieur le Professeur Bart Staels et Monsieur le Dr Benoit Viollet d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Mes premiers et plus vifs remerciements sont pour le Pr Bart Staels. Je vous remercie de m'avoir accueillie en stage post-doctoral en 2004 et de m'avoir fait confiance, deux ans après, pour me soutenir dans la démarche de me présenter en tant que Maître de Conférences au sein de votre Unité. Vous avez donné à la recherche une dimension que je ne connaissais pas à l'issue de ma thèse et je ne cesse d'apprendre en travaillant avec vous. Merci de m'avoir régulièrement poussée un peu au-delà de ce que je pensais être mes limites...je n'en ai que plus appris et ma motivation en a été accrue !

Des remerciements bien particuliers pour le Pr Véronique Clavey. Je vous remercie pour m'avoir soutenue dans la démarche de me présenter en tant que Maître de Conférences au sein du service de Biologie Cellulaire de la Faculté de Pharmacie de Lille et de m'avoir poussée à encadrer ma première étudiante en Master 2 Recherche. Merci de m'avoir fait bénéficier de vos précieux et sages conseils !

Je remercie vivement Sophie Lestavel, ma « chef » d'enseignement et bien précieuse collègue d'enseignement et de recherche. Merci de créer une ambiance de travail motivante, chaleureuse et pleine de compréhension dans le Service de Biologie Cellulaire : je ne peux rêver mieux... Et je souhaite que nous continuons à essayer d'augmenter nos interactions en recherche dans le groupe des « FXRettes », de nous lancer plus souvent dans des « brainstorming » au sein de ce petit groupe, ... Et merci de toujours m'accueillir et de me conseiller chaleureusement quand j'ai besoin du nième petit conseil pour mes enseignements, ma recherche, ...

Je continue en remerciant chaleureusement mes collègues du Service de Biologie Cellulaire qui contribuent à cette bonne ambiance : merci, c'est un plaisir d'interagir avec vous pour les enseignements ! Kad et Réjane, avec qui j'espère pouvoir augmenter mes interactions en recherche et Julie, que je ne vois pas tous les jours, mais que je retrouve chaque année avec plaisir pour notre série de TP !

Un clin d'œil particulier aux anciens et actuels « membres » du groupe « FXRettes » : merci pour nos réunions, pas assez fréquentes, de « Brainstorming » qui m'apportent tant ! Janne, ma première post-doc et « initiatrice » de ce groupe, avec qui se fut un véritable plaisir de travailler ; Sophie et Kad, que j'ai déjà remerciées et Anne, avec qui j'espère pouvoir augmenter mes interactions scientifiques !

Des remerciements bien particuliers pour mon « collègue » de bureau, Olivier. Merci d'être toujours là pour partager mes petits soucis d'enseignante et chercheuse ! Merci pour tes bons conseils ou tes pistes de réflexion, que cela soit pour ma vie professionnelle ou personnelle ! J'espère que nous continuerons encore longtemps à partager le même bureau ☺!

Des très vifs remerciements à ma « chère » Hélène (Dehondt) ! Merci pour ta motivation « qui vaut celle de deux thésards », merci de ne jamais baisser les bras même quand cela semble mal engagé, merci de m'aider

à gérer des manip à « x milles points », ... Sans ta motivation à toute épreuve et ton aide précieuse, j'aurais bien du mal à mener mes projets ! Et surtout, n'oublions pas : « On va y arriver ! » ☺ Et merci pour ton écoute et tes nombreux petits conseils de la vie de tous les jours !

Un clin d'œil très spécial pour mes deux post-doc préférées, Janne et Arianna ! Merci, en toutes circonstances, vous avez été là pour m'épauler dans les projets de recherche en cours dans le groupe et ce fut un véritable plaisir de travailler avec vous le temps de votre passage au laboratoire !

Mes remerciements à Emilie et Emmanuelle qui bichonnent nos petites souris ! Vous êtes à la « base » de nos projets souris ! Ma « chère » Emilie, notre première rencontre reste un très bon souvenir et j'ai apprécié à ce moment-là ton répondant ! Je suis vraiment contente que ta place dans l'Unité ait été pérennisée, c'est un véritable plaisir de travailler avec toi ! J'espère que notre collaboration sera longue ! Emmanuelle, au cours de nos interactions, certes ponctuelles, j'apprécie ta disponibilité et ton sérieux !

Un merci spécial pour Xavier : merci pour tes bons petits conseils pour les projets souris, pour m'avoir sortie de quelques petits tracas administratifs concernant ma formation souris, pour m'avoir épargné d'autres tracas en me poussant à faire ma formation continue souris (☺), ... Bref, sans toi, mes projets souris en auraient pris un coup ! Et merci pour ta sympathie de tous les jours !

Merci à Véronique pour ta sympathie et tes discussions et conseils avisés !

Je n'oublierai pas notre « Monsieur QPCR », Bruno ! Merci de tous tes bons conseils prodigués ces quinze dernières années et pour ta sympathie durant tout ce temps !

Merci à David et Philippe pour nos interactions scientifiques !

Je n'oublie pas Béatrice, qui m'a aidée à de multiples reprises dans ma vie de tous les jours au labo et à la fac, et Inès, qui nous aide pour la bonne réalisation de nos TP à la fac !

Je souhaite aussi ici remercier tous les membres de l'équipe administrative de l'Unité : François, pour, au fil des années, m'avoir aidée à résoudre mes grands et petits problèmes « non-scientifiques et non-financiers » (pour reprendre tes mots ☺) ; Pascal (maintenant à la retraite) et Rosamée, pour m'avoir dépannée en passant mes commandes « super-hyper-urgentes » ; Marie-Hélène et Julien, pour leur aide précieuse ; et les personnes qui se sont succédées à l'accueil de JK, Yannick et Sylvie, qui m'ont aidée à de nombreuses reprises, Clément, que l'on aurait bien gardé, et maintenant, Séverine, qui, en quelques mois à peine, m'a déjà beaucoup aidée !

Un clin d'œil à Mouaadh, Carolina et Thomas, les premiers étudiants que j'ai co-encadrés en thèse et qui m'ont poussée/me poussent à me demander comment encadrer au mieux une thèse ☺!

Je ne peux citer tout le monde, mais je tiens à remercier l'ensemble des personnes qui ont fait par le passé et qui font actuellement partie de l'Unité 1011 car chacune, à sa façon, m'a aidé/m'aide dans mon travail de tous les jours, en me faisant bénéficier de son expérience, de ses connaissances ou par un conseil, un encouragement, une discussion, un sourire...

Je dédierai ses dernières lignes à ma famille. Quinze ans après mes remerciements de thèse, je peux ré-écrire quasiment les mêmes lignes, toujours avec tout mon amour, pour mon « tendre et cher », aujourd'hui mon époux, Olivier. Je te remercie pour ta présence, ton écoute, ta compréhension, ta patience surtout, qui restent d'un grand soutien dans mon travail de recherche, pour surmonter les périodes pendant lesquelles la recherche est infructueuse. Et tu es là aussi pour partager les moments particuliers en recherche où tout semble tout d'un coup s'éclairer et que déferlent l'envie et la motivation de continuer de répondre aux questions scientifiques que je me pose...

Et ces toutes dernières lignes pour nos deux « belles lumières », Elouan et Noélie, qui sont venus ensoleiller notre vie quotidienne... Nos deux petits « choupinous » qui donnent envie de soulever des montagnes, tout en nous ramenant toujours à l'essentiel de la vie... « Merci à vous 3, grâce à Vous, tout a un sens... »

Pour Christophe

A Olivier, Elouan et Noémie

Sommaire

REMERCIEMENTS	2
SOMMAIRE	10
I. CURRICULUM VITAE DETAILLE.....	12
IDENTITE, COORDONNEES ET SITUATION PROFESSIONNELLE ACTUELLE	14
FORMATION UNIVERSITAIRE, DIPLOMES ET QUALIFICATIONS	15
STAGES ET ACTIVITES DE RECHERCHE.....	16
PUBLICATIONS	18
ACTIVITES D'ENCADREMENT	22
ACTIVITES D'ADMINISTRATION	26
COMPETENCES TECHNIQUES ACQUISES	28
II. ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT.....	30
<i>II. 1. Activités d'enseignement au cours de la thèse</i>	<i>32</i>
<i>II. 2. Activités d'enseignement en tant que Maître de Conférences.....</i>	<i>33</i>
III. ACTIVITES DE RECHERCHE.....	36
<i>III. 1. Stages et préparation de la thèse</i>	<i>38</i>
1/ Stages de licence, maîtrise et D.E.A.	38
Juillet-août 1997 : stage de Licence du Magistère de Génétique.....	38
Mars-juillet 1998 : stage de Maîtrise du Magistère de Génétique	38
Septembre 1998-août 1999 : stage de D.E.A.	39
2/ Préparation de la thèse	40
2.1. La régulation de l'expression du gène de la cycline D1, un régulateur important du cycle cellulaire, par la thrombopoïétine.....	41
2.2. La régulation de la machinerie traductionnelle globale par la thrombopoïétine.....	42
<i>III. 2. Stage post-doctoral et activités en tant que Maître de Conférences.....</i>	<i>44</i>
1/ Le contexte scientifique : le récepteur nucléaire FXR.....	44
Thématique générale de l'Unité INSERM 1011	44
Le récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR)	45
2/ Projets finis	49
2.1. Etude du rôle du récepteur FXR dans le métabolisme du foie et du tissu adipeux.....	49
Projet 1. Identification des mécanismes d'action de FXR dans la régulation de la différenciation adipocytaire.	49
Projet 2. Etude du rôle de FXR dans le développement de l'obésité induite par la nourriture ou génétiquement.	51
Projet 3. Sélection de modèles hépatiques humains pour l'étude de la régulation du métabolisme du glucose au niveau du foie.	52

Projet 4. Identification des mécanismes moléculaires d'action de FXR sur la voie de la glycolyse/lipogenèse dans le foie - Interférence de FXR avec la voie ChREBP.....	53
2.2. Etude de la régulation de l'expression hépatique de l'apolipoprotéine (apo) CIII par le glucose	55
3/ Projets en cours et futurs.....	57
3.1. Etude du rôle de FXR dans la fonction de l'adipocyte	57
Gestion du projet.....	57
Contexte scientifique.....	57
L'inflammation dans le tissu adipeux blanc	57
Le récepteur FXR et ses rôles dans le tissu adipeux et l'adipocyte blancs et le développement de l'obésité	60
FXR favorise-t-il le développement de l'inflammation dans le tissu adipeux blanc? - Résultats préliminaires	62
La question scientifique	62
Les résultats obtenus	62
Conclusions / Discussion / Perspectives	71
3.2. Interaction fonctionnelle entre le récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) et la voie canonique Wnt/ β -caténine dans le métabolisme hépatique	72
Gestion du projet.....	72
Contexte scientifique.....	72
La voie canonique Wnt/ β -caténine	72
La zonation métabolique hépatique et la voie Wnt/ β -caténine.....	75
La voie Wnt/ β -caténine et la régulation du métabolisme dans le foie.....	81
La voie Wnt/ β -caténine et les récepteurs nucléaires.....	83
La voie Wnt/ β -caténine, la zonation métabolique et les maladies métaboliques du foie	84
La question scientifique	86
Le programme de recherche.....	86
Sous-objectif 1 – Etude des mécanismes moléculaires mis en jeu dans l'interférence de la voie canonique Wnt/ β -caténine avec l'activité du récepteur FXR.....	87
Sous-objectif 2 – Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine dans le foie zoné de souris.....	88
Sous-objectif 3 – Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine <i>in vivo</i>	88
Conclusion / Discussion / Perspectives.....	89
V. CONCLUSIONS, PERSPECTIVES	92
VI. BIBLIOGRAPHIE	98
VII. ANNEXES – PUBLICATIONS SIGNIFICATIVES.....	114

I. Curriculum Vitae détaillé

Identité, coordonnées et situation professionnelle actuelle

Identité et coordonnées

Sandrine CARON-HOUDE, mariée, 2 enfants

Date de naissance et âge :

27 juillet 1975 ; 43 ans

Adresse personnelle :

27 rue de la Clé

59650 VILLENEUVE D'ASCQ

Tél. domicile : 03.20.56.18.46 / 06.70.53.92.89

Email : sandrine.caron-houde@univ-lille.fr

Situation professionnelle

Depuis septembre 2006 : Maître de Conférences en Biologie Cellulaire, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Adresse de la Faculté :

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Service de Biologie Cellulaire

Chef de service : Pr Sophie LESTAVEL

3, rue du Professeur Laguesse

B.P. 83

59006 Lille cedex - France

Intitulé et adresse du laboratoire de recherche :

INSERM Unité 1011, Institut Pasteur de Lille et Université de Lille

« Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète »

Directeur du laboratoire : Pr Bart STAELS

Equipe 1 « Récepteurs nucléaires dans le syndrome métabolique » dirigée par le Pr Bart STAELS

Bâtiment J&K, Faculté de Médecine de Lille-Pôle Recherche

Boulevard du Professeur Leclerc

59045 Lille cedex

France

Tél. : 03 20 97 42 11

Formation universitaire, diplômes et qualifications

1992-1993

Baccalauréat scientifique C, Lycée Hugues Capet (Senlis, Oise, 60) (Mention Assez Bien).

1993-1994

Classe Préparatoire aux Ecoles Vétérinaires, Lycée Louis Thuillier (Amiens, Somme, 80).

1994-1996

D.E.U.G. SV (Sciences de la vie), Université Jules Verne (Amiens, Somme, 80) (Mention Bien).

1996-1998

Magistère de Génétique, Licence et Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie, Université Paris VII (Mention Assez Bien).

1998-1999

D.E.A. « Bases Fondamentales de l'Oncogenèse », Université Paris VII (Mention Bien).

1999-2003

Thèse, préparée dans l'Unité INSERM 567, Institut Cochin, Paris ; obtenue le 12 décembre 2003 à l'Université Paris VII.

2005

Qualification dans le corps des Maîtres de Conférences, Section 65 (Biologie Cellulaire), obtenue le 02/03/2005 (n° de qualification : 05265148212).

2006

Nomination en tant que **Maître de Conférences en Biologie Cellulaire** à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille et au sein de l'Unité INSERM 1011.

2009

Niveau I d'expérimentation animale, "De la modification génétique à l'exploration fonctionnelle et comportementale", Institut Pasteur de Lille.

2017

Diplôme de Chirurgie Expérimentale, AUEC "Formation spécifique destinée aux personnes concevant ou réalisant des procédures expérimentales chirurgicales", Formation médicale continue de la Faculté de Médecine – Pôle Recherche, Lille.

Stages et activités de recherche

1997

Stage de Licence (1 mois ½)

Département de Biologie Clinique (Directeur : Pr D. Bellet), Institut Gustave Roussy, Villejuif (Val-de-Marne, 94).

Sujet de stage : « Diagnostic et suivi biologique des Cancers Médullaires de la Thyroïde (CMT) ».

1998

Stage de Maîtrise (5 mois)

Unité de Fœtopathologie (Dr A.-L. Delezoidé) dans le service d'Histo-embryo-cytogénétique (Directeur : Pr M. Vekemans), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris.

Sujet du stage : « Analyse morpho-fonctionnelle des mutations humaines des FGFR ».

1998-1999

Stage de D.E.A. (10 mois)

Laboratoire de Génétique Oncologique (CNRS-UMR 8125) (directeur : Pr J. Feunteun), Institut Gustave Roussy, Villejuif (Val-de-Marne, 94).

Directeurs de stage : Pr P. Rouget, Dr C. Evrard

Sujet du stage : « Analyse fonctionnelle de la région promotrice du gène *npdc-1* ».

1999-2003

Thèse (4 ans)

Département d'Hématologie, Institut Cochin, Unité INSERM 567 (Directeur : Pr A. Kahn ; co-directeur : Dr P.-H. Roméo), Paris.

Directeur de thèse : Dr I. Dusanter-Fourt.

Sujet de thèse : « Etude de régulations transcriptionnelles et traductionnelles induites par la thrombopoïétine dans la cellule mégacaryocytaire ».

Financement : bourse MNERT (1999-2002), bourse de la Ligue Nationale contre le cancer (2003), bourse de soudure de la Société Française d'Hématologie (SFH) (début 2004, 3 mois).

2004-2006

Stage post-doctoral (2 ans)

Unité INSERM 1011 (ex-U545) et Université de Lille 2 (Directeur : Pr J.-C. Fruchart), Institut Pasteur de Lille

Responsable scientifique : Pr B. Staels

Sujet: « Etude de l'interconnexion de deux récepteurs nucléaires, PPAR α et FXR, avec les voies activées respectivement par l'insuline et le glucose dans le foie ».

Financement : contrat européen

Depuis septembre 2006

Maître de Conférences en Biologie Cellulaire

Unité INSERM 1011, Université de Lille 2 (Directeur : Pr B Staels), Institut Pasteur de Lille

Equipe : « Récepteurs nucléaires dans le syndrome métabolique » (Direction : Pr B Staels)

Thèmes de recherche: «Etude du rôle du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans le contrôle du métabolisme dans le foie et le tissu adipeux».

Publications

Bilan :

38 articles dont :

- ✓ 7 articles en 1^{er} auteur
- ✓ 4 articles en 2^{ème} auteur
- ✓ 7 articles en 3^{ème} auteur
- ✓ 2 articles en avant-dernier auteur
- ✓ 6 revues/éditoriaux

Liste :

1. Legry V, Francque S, Haas JT, Verrijken A, Caron S, Chávez-Talavera O, Vallez E, Vonghia L, Dirinck E, Verhaegen A, Kouach M, Lestavel S, Lefebvre P, Van Gaal L, Tailleux A, Paumelle R, Staels B. (2017) Bile Acid Alterations Are Associated With Insulin Resistance, but Not With NASH, in Obese Subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* **102**:3783-3794.
2. Ratman D, Mylka V, Bougarne N, Pawlak M, Caron S, Hennuyer N, Paumelle R, De Cauwer L, Thommis J, Rider MH, Libert C, Lievens S, Tavernier J, Staels B, De Bosscher K. (2016) Chromatin recruitment of activated AMPK drives fasting response genes co-controlled by GR and PPAR α . *Nucleic Acids Res.* **44**:10539-10553.
3. Trabelsi M., Daoudi M., Prawitt J., Ducastel S., Touche V., Sayin S.I., Perino A., Brighton C.A., Sebti Y., Kluza J., Briand O., Dehondt H., Vallez E., Dorchies E., Baud G., Spinelli V., Hennuyer N., Caron S., Bantubungi K., Caiazzo R., Reimann F., Marchetti P., Lefebvre P., Bäckhed F., Gribble F.M., Schoonjans K., Pattou F., Tailleux A., Staels B. and Lestavel S. (2015). Farnesoid X receptor inhibits glucagon-like peptide-1 production by enteroendocrine L cells. *Nat Commun* **6**: 7629.
4. Spinelli V., Martin C., Dorchies E., Vallez E., Dehondt H., Trabelsi M., Tailleux A., Caron S. and Staels B. (2015). Screening strategy to generate cell specific recombination: a case report with the RIP-Cre mice. *Transgenic Res.* **24**: 803-812.
5. Francque S., Verrijken A., Caron S., Prawitt J., Paumelle R., Derudas B., Lefebvre P., Taskinen M., Van Hul W., Mertens I., Hubens G., Van Marck E., Michielsen P., Van Gaal L. and Staels B. (2015). PPAR α gene expression correlates with severity and histological treatment response in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.* **63**: 164-173.
6. Benhamed F., Filhoulaud G., Caron S., Lefebvre P., Staels B. and Postic C. (2014). O-GlcNAcylation Links ChREBP and FXR to Glucose-Sensing. *Front Endocrinol (Lausanne)* **5**: 230.
7. Oger F., Gheeraert C., Mogilenko D., Benomar Y., Molendi-Coste O., Bouchaert E., Caron S., Dombrowicz D., Pattou F., Duez H., Eeckhoutte J., Staels B. and Lefebvre P. (2014). Cell-specific dysregulation of microRNA expression in obese white adipose tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **99**: 2821-2833.
8. Prawitt J., Caron S. and Staels B. (2014). Glucose-lowering effects of intestinal bile acid sequestration through enhancement of splanchnic glucose utilization. *Trends Endocrinol. Metab.* **25**: 235-244.

9. Bantubungi K, Hannou SA, Caron-Houde S, Vallez E, Baron M, Lucas A, Bouchaert E, Paumelle R, Tailleux A, Staels B. (2014) Cdkn2a/p16Ink4a regulates fasting-induced hepatic gluconeogenesis through the PKA-CREB-PGC1 α pathway. *Diabetes*. **63**:3199-209.
10. Neve B., Le Bacquer O., Caron S., Huyvaert M., Leloire A., Poulain-Godefroy O., Lecoecur C., Pattou F., Staels B. and Froguel P. (2014). Alternative human liver transcripts of TCF7L2 bind to the gluconeogenesis regulator HNF4 α at the protein level. *Diabetologia* **57**: 785-796.
11. Verrijken A., Francque S., Mertens I., Prawitt J., Caron S., Hubens G., Van Marck E., Staels B., Michielsen P. and Van Gaal L. (2014). Prothrombotic factors in histologically proven nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* **59**: 121-129.
12. Berrabah W., Aumercier P., Gheeraert C., Dehondt H., Bouchaert E., Alexandre J., Ploton M., Mazuy C., Caron S., Tailleux A., Eeckhoutte J., Lefebvre T., Staels B. and Lefebvre P. (2014). Glucose sensing O-GlcNAcylation pathway regulates the nuclear bile acid receptor farnesoid X receptor (FXR). *Hepatology* **59**: 2022-2033.
13. Verrijken A., Beckers S., Francque S., Hilden H., Caron S., Zegers D., Ruppert M., Hubens G., Van Marck E., Michielsen P., Staels B., Taskinen M., Van Hul W. and Van Gaal L. (2013). A gene variant of PNPLA3, but not of APOC3, is associated with histological parameters of NAFLD in an obese population. *Obesity (Silver Spring)* **21**: 2138-2145.
14. Caron S., Huaman Samanez C., Dehondt H., Ploton M., Briand O., Lien F., Dorchie E., Dumont J., Postic C., Cariou B., Lefebvre P. and Staels B. (2013). Farnesoid X receptor inhibits the transcriptional activity of carbohydrate response element binding protein in human hepatocytes. *Mol. Cell. Biol.* **33**: 2202-2211.
15. Samanez C.H., Caron S., Briand O., Dehondt H., Duplan I., Kuipers F., Hennuyer N., Clavey V. and Staels B. (2012). The human hepatocyte cell lines IHH and HepaRG: models to study glucose, lipid and lipoprotein metabolism. *Arch. Physiol. Biochem.* **118**: 102-111.
16. Perttilä J., Huaman-Samanez C., Caron S., Tanhuanpää K., Staels B., Yki-Järvinen H. and Olkkonen V.M. (2012). PNPLA3 is regulated by glucose in human hepatocytes, and its I148M mutant slows down triglyceride hydrolysis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **302**: E1063-9.
17. Coulon S., Francque S., Colle I., Verrijken A., Blomme B., Heindryckx F., De Munter S., Prawitt J., Caron S., Staels B., Van Vlierberghe H., Van Gaal L. and Geerts A. (2012). Evaluation of inflammatory and angiogenic factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Cytokine* **59**: 442-449.
18. Boergesen M., Pedersen T.Å., Gross B., van Heeringen S.J., Hagenbeek D., Bindesbøll C., Caron S., Lalloyer F., Steffensen K.R., Nebb H.I., Gustafsson J., Stunnenberg H.G., Staels B. and Mandrup S. (2012). Genome-wide profiling of liver X receptor, retinoid X receptor, and peroxisome proliferator-activated receptor α in mouse liver reveals extensive sharing of binding sites. *Mol. Cell. Biol.* **32**: 852-867.
19. Prawitt J., Caron S. and Staels B. (2011). Bile acid metabolism and the pathogenesis of type 2 diabetes. *Curr. Diab. Rep.* **11**: 160-166.
20. Lalloyer F., Wouters K., Baron M., Caron S., Vallez E., Vanhoutte J., Baugé E., Shiri-Sverdlov R., Hofker M., Staels B. and Tailleux A. (2011). Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha gene level differently affects lipid metabolism and inflammation in apolipoprotein E2 knock-in mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **31**: 1573-1579.

21. Caron S., Verrijken A., Mertens I., Samanez C.H., Mautino G., Haas J.T., Duran-Sandoval D., Prawitt J., Francque S., Vallez E., Muhr-Tailleux A., Berard I., Kuipers F., Kuivenhoven J.A., Biddinger S.B., Taskinen M., Van Gaal L. and Staels B. (2011). Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Diabetes* **31**: 513-519.
22. Prawitt J., Abdelkarim M., Stroeve J.H.M., Popescu I., Duez H., Velagapudi V.R., Dumont J., Bouchaert E., van Dijk T.H., Lucas A., Dorchies E., Daoudi M., Lestavel S., Gonzalez F.J., Oresic M., Cariou B., Kuipers F., Caron S. and Staels B. (2011). Farnesoid X receptor deficiency improves glucose homeostasis in mouse models of obesity. *Diabetes* **60**: 1861-1871.
23. Abdelkarim M., Caron S., Duhem C., Prawitt J., Dumont J., Lucas A., Bouchaert E., Briand O., Brozek J., Kuipers F., Fievet C., Cariou B. and Staels B. (2010). The farnesoid X receptor regulates adipocyte differentiation and function by promoting peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and interfering with the Wnt/beta-catenin pathways. *J. Biol. Chem.* **285**: 36759-36767.
24. Popescu I.R., Helleboid-Chapman A., Lucas A., Vandewalle B., Dumont J., Bouchaert E., Derudas B., Kerr-Conte J., Caron S., Pattou F. and Staels B. (2010). The nuclear receptor FXR is expressed in pancreatic beta-cells and protects human islets from lipotoxicity. *FEBS Lett.* **584**: 2845-2851.
25. J. Prawitt, S. Caron, B. Staels. (2010) How to modulate FXR activity to treat the metabolic syndrome. *Drug Discovery Today : Disease Mechanisms*, **6**:e55-e64.
26. Touvier T., Conte-Auriol F., Briand O., Cudejko C., Paumelle R., Caron S., Baugé E., Rouillé Y., Salles J., Staels B. and Bailleul B. (2009). LEPROT and LEPROTL1 cooperatively decrease hepatic growth hormone action in mice. *J. Clin. Invest.* **119**: 3830-3838.
27. Bougarne N., Paumelle R., Caron S., Hennuyer N., Mansouri R., Gervois P., Staels B., Haegeman G. and De Bosscher K. (2009). PPARalpha blocks glucocorticoid receptor alpha-mediated transactivation but cooperates with the activated glucocorticoid receptor alpha for transrepression on NF-kappaB. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**: 7397-7402.
28. Clemenz M., Frost N., Schupp M., Caron S., Foryst-Ludwig A., Böhm C., Hartge M., Gust R., Staels B., Unger T. and Kintscher U. (2008). Liver-specific peroxisome proliferator-activated receptor alpha target gene regulation by the angiotensin type 1 receptor blocker telmisartan. *Diabetes* **57**: 1405-1413.
29. Caron S. and Staels B. (2008). Apolipoprotein CIII: a link between hypertriglyceridemia and vascular dysfunction? *Circ. Res.* **103**: 1348-1350.
30. Langhi C., Le May C., Kourimate S., Caron S., Staels B., Krempf M., Costet P. and Cariou B. (2008). Activation of the farnesoid X receptor represses PCSK9 expression in human hepatocytes. *FEBS Lett.* **582**: 949-955.
31. Murakami T., Walczak R., Caron S., Duhem C., Vidal V., Darteil R. and Staels B. (2007). The farnesoid X receptor induces fetuin-B gene expression in human hepatocytes. *Biochem. J.* **407**: 461-469.
32. Kuipers F., Stroeve J.H.M., Caron S. and Staels B. (2007). Bile acids, farnesoid X receptor, atherosclerosis and metabolic control. *Curr. Opin. Lipidol.* **18**: 289-297.
33. Cariou B., Bouchaert E., Abdelkarim M., Dumont J., Caron S., Fruchart J., Burcelin R., Kuipers F. and Staels B. (2007). FXR-deficiency confers increased susceptibility to torpor. *FEBS Lett.* **581**: 5191-5198.

34. Caron S., Cariou B. and Staels B. (2006). FXR: More than a bile acid receptor? *Endocrinology* **147**: 4022-4024.
35. Cariou B., van Harmelen K., Duran-Sandoval D., van Dijk T.H., Grefhorst A., Abdelkarim M., Caron S., Torpier G., Fruchart J., Gonzalez F.J., Kuipers F. and Staels B. (2006). The farnesoid X receptor modulates adiposity and peripheral insulin sensitivity in mice. *J. Biol. Chem.* **281**: 11039-11049.
36. Caron S., Charon M., Cramer E., Sonenberg N. and Dusanter-Fourt I. (2004). Selective modification of eukaryotic initiation factor 4F (eIF4F) at the onset of cell differentiation: recruitment of eIF4GII and long-lasting phosphorylation of eIF4E. *Mol. Cell. Biol.* **24**: 4920-4928.
37. Evrard C., Caron S. and Rouget P. (2004). Functional analysis of the NPDC-1 gene. *Gene* **343**: 153-163.
38. Magné S., Caron S., Charon M., Rouyez M. and Dusanter-Fourt I. (2003). STAT5 and Oct-1 form a stable complex that modulates cyclin D1 expression. *Mol. Cell. Biol.* **23**: 8934-8945.

Activités d'encadrement

Stagiaires post-doctoraux

2007-2012 (5 ans) - **Janne PRAWITT**

Sujet de stage : «Etude du rôle du récepteur nucléaire FXR dans l'obésité».

Publications (9 articles):

- Trabelsi M., Daoudi M., **Prawitt J.**, Ducastel S., Touche V., Sayin S.I., Perino A., Brighton C.A., Sebti Y., Kluza J., Briand O., Dehondt H., Vallez E., Dorchie E., Baud G., Spinelli V., Hennuyer N., **Caron S.**, Bantubungi K., Caiazza R., Reimann F., Marchetti P., Lefebvre P., Bäckhed F., Gribble F.M., Schoonjans K., Pattou F., Tailleux A., Staels B. and Lestavel S. (2015). Farnesoid X receptor inhibits glucagon-like peptide-1 production by enteroendocrine L cells. *Nat Commun* **6**: 7629.
- Francque S., Verrijken A., **Caron S.**, **Prawitt J.**, Paumelle R., Derudas B., Lefebvre P., Taskinen M., Van Hul W., Mertens I., Hubens G., Van Marck E., Michielsen P., Van Gaal L. and Staels B. (2015). PPAR α gene expression correlates with severity and histological treatment response in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.* **63**: 164-173.
- **Prawitt J.**, **Caron S.** and Staels B. (2014). Glucose-lowering effects of intestinal bile acid sequestration through enhancement of splanchnic glucose utilization. *Trends Endocrinol. Metab.* **25**: 235-244.
- Verrijken A., Francque S., Mertens I., **Prawitt J.**, **Caron S.**, Hubens G., Van Marck E., Staels B., Michielsen P. and Van Gaal L. (2014). Prothrombotic factors in histologically proven nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* **59**: 121-129.
- Coulon S., Francque S., Colle I., Verrijken A., Blomme B., Heindryckx F., De Munter S., **Prawitt J.**, **Caron S.**, Staels B., Van Vlierberghe H., Van Gaal L. and Geerts A. (2012). Evaluation of inflammatory and angiogenic factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Cytokine* **59**: 442-449.
- **Prawitt J.**, **Caron S.** and Staels B. (2011). Bile acid metabolism and the pathogenesis of type 2 diabetes. *Curr. Diab. Rep.* **11**: 160-166.
- **Caron S.**, Verrijken A., Mertens I., Samanez C.H., Mautino G., Haas J.T., Duran-Sandoval D., **Prawitt J.**, Francque S., Vallez E., Muhr-Tailleux A., Berard I., Kuipers F., Kuivenhoven J.A., Biddinger S.B., Taskinen M., Van Gaal L. and Staels B. (2011). Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **31**: 513-519.
- **Prawitt J.**, Abdelkarim M., Stroeve J.H.M., Popescu I., Duez H., Velagapudi V.R., Dumont J., Bouchaert E., van Dijk T.H., Lucas A., Dorchie E., Daoudi M., Lestavel S., Gonzalez F.J., Oresic M., Cariou B., Kuipers F., **Caron S.** and Staels B. (2011). Farnesoid X receptor deficiency improves glucose homeostasis in mouse models of obesity. *Diabetes* **60**: 1861-1871.
- Abdelkarim M., **Caron S.**, Duhem C., **Prawitt J.**, Dumont J., Lucas A., Bouchaert E., Briand O., Brozek J., Kuipers F., Fievet C., Cariou B. and Staels B. (2010). The farnesoid X receptor regulates adipocyte differentiation and function by promoting peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and interfering with the Wnt/beta-catenin pathways. *J. Biol. Chem.* **285**: 36759-36767.

2012-2013 (1 an) - **Céline MARTIN**

Sujet de stage : «Etude du rôle du récepteur nucléaire FXR dans la différenciation et fonction adipocytaire».

Publications :

Spinelli V., **Martin C.**, Dorchies E., Vallez E., Dehondt H., Trabelsi M., Tailleux A., **Caron S.** and Staels B. (2015). Screening strategy to generate cell specific recombination: a case report with the RIP-Cre mice. *Transgenic Res.* **24**: 803-812.

2014-2017 - **Arianna MARINO**

Sujet de stage : «Etude du rôle du récepteur nucléaire FXR dans l'inflammation du tissu adipeux».

Publications :

Marino A., Dehondt H., Mogilenko D., Dorchies E, Modendi-Coste O, Dombrowicz D., **Caron S.**, Staels B. Adipocyte-specific Farnesoid X receptor-deficiency improves glucose metabolism by reducing adipose tissue inflammation. *En préparation*.

Co-encadrements de thèses

2005-2010 - **Mouaadh ABDELKARIM**, thèse soutenue le 12 mai 2010

Sujet de thèse : « Etude du rôle du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans la fonction adipocytaire ».

Co-encadrement à 50% avec le Dr Catherine FIEVET

Publications (4 articles):

➤ Cariou B., van Harmelen K., Duran-Sandoval D., van Dijk T.H., Grefhorst A., **Abdelkarim M.**, **Caron S.**, Torpier G., Fruchart J., Gonzalez F.J., Kuipers F. and Staels B. (2006). The farnesoid X receptor modulates adiposity and peripheral insulin sensitivity in mice. *J. Biol. Chem.* **281**: 11039-11049.

➤ Cariou B., Bouchaert E., **Abdelkarim M.**, Dumont J., **Caron S.**, Fruchart J., Burcelin R., Kuipers F. and Staels B. (2007). FXR-deficiency confers increased susceptibility to torpor. *FEBS Lett.* **581**: 5191-5198.

➤ **Abdelkarim M.**, **Caron S.**, Duhem C., Prawitt J., Dumont J., Lucas A., Bouchaert E., Briand O., Brozek J., Kuipers F., Fievet C., Cariou B. and Staels B. (2010). The farnesoid X receptor regulates adipocyte differentiation and function by promoting peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and interfering with the Wnt/beta-catenin pathways. *J. Biol. Chem.* **285**: 36759-36767.

➤ Prawitt J., **Abdelkarim M.**, Stroeve J.H.M., Ristea Popescu I., Duez H., Velagapudi V.R., Dumont J., Bouchaert E., van Dijk T.H. , Lucas A., Dorchies E., Daoudi M., Lestavel S., Gonzalez F.J., Oresic M., Cariou B., Kuipers F., **Caron S.**, Staels B. (2011) Farnesoid X receptor deficiency improves glucose homeostasis in mouse models of obesity. *Diabetes.* **60**:1861-1871.

2008-2012 - **Carolina HUAMAN SAMANEZ**, , thèse soutenue le 7 février 2012

Sujet de thèse : « Etude du rôle du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans le contrôle de l'utilisation du glucose. ».

Co-encadrement à 50% avec le Pr Véronique CLAVEY

Publications (4 articles):

➤ **Caron S.**, Verrijken A., Mertens I., **Huaman Samanez C.**, Mautino G, Haas J.T., Duran-Sandoval D., Prawitt J., Francque S., Vallez E., Muhr-Tailleux A., Berard I., Kuipers F, Kuivenhoven J.A., Biddinger S.B., Taskinen M.R., Van Gaal L. and Staels B. (2011) Transcriptional activation of

apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **31**:513-519.

➤ Perttilä J, **Huaman-Samanez C**, **Caron S**, Tanhuanpää K, Staels B, Yki-Järvinen H, Olkkonen VM. (2012) PNPLA3 is regulated by glucose in human hepatocytes and its I148M mutant slows down triglycerides hydrolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **302**:E1063-1069.

➤ **Huaman Samanez C***, **Caron S***, Briand O, Dehondt H, Duplan I, Kuipers F, N Hennuyer, Clavey V, Staels B. (2012) The human hepatocyte cell lines IHH and HepaRG : models to study glucose, lipid and lipoprotein metabolism. *Arch Physiol Biochem.* **118**:102-111. (* : co-1^{ers} auteurs)

➤ **Caron S***, **Huaman Samanez C***, Dehondt H, Ploton M, Briand O, Lien F, Dorchies E, Dumont J, Postic C, Cariou B, Lefebvre P, Staels B. The Farnesoid X Receptor inhibits the transcriptional activity of the Carbohydrate Response Element Binding Protein in human hepatocytes. *Mol Cell Biol.* *In press.* (* : co-1^{ers} auteurs)

Depuis Septembre 2016 - **Thomas DZIWOSZ**

Sujet de thèse : « Interaction fonctionnelle entre le récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) et la voie canonique Wnt/beta-caténine dans le métabolisme hépatique ».

Co-encadrement à 50% avec le Pr Sophie LESTAVEL

Stagiaires Master 2 Recherche

2007-2008 - **Carolina HUAMAN SAMANEZ**, M2R Biologie-Santé

Thème du stage : « La lignée cellulaire HepaRG, un bon modèle pour l'étude de la régulation du métabolisme glucidique ? »

Obtention d'une bourse de thèse du Ministère.

2015-2016 - **Thomas DZIWOSZ**, M2R Biologie-Santé

Thème du stage : « Interférence de la voie canonique Wnt/Beta-caténine avec l'activité du récepteur nucléaire FXR dans l'hépatocyte »

Obtention d'une bourse de thèse du Ministère.

Stagiaires Master 1

2013 - **Kévin SAITOSKI**, Université Lille 1, 4 semaines.

Thème du stage : « Etude de l'implication du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans le processus de différenciation adipocytaire au sein de la lignée 3T3-L1 »

Mémoire et soutenance de stage.

2014 - **Woodys LENGA**, Université Lille 1, 4 semaines.

Thème du stage : « Effet de l'activation du récepteur nucléaire FXR sur l'activité de la voie canonique Wnt/ β -caténine dans un modèle hépatocytaire humain »

Mémoire et soutenance de stage.

2015 - **Thomas DZIWOSZ**, Université Lille 1, 4 semaines.

Thème du stage : « Interférence de la voie canonique Wnt/ β -caténine avec l'activité du récepteur nucléaire FXR »

Mémoire et soutenance de stage.

2018 - **Ilyès BENHALIMA**, Master 1 Biologie-Santé (Physiologie), Université de Lille, 3 semaines.

Thème du stage : « Enrichissement de populations d'hépatocytes en hépatocytes périportaux ou périportaux – Modèle d'étude de zonation métabolique hépatique »

Mémoire et soutenance de stage.

Stagiaires Licence 3

2012 - **Vincent CLINQUART**, Université Lille 1, 4 semaines.

Thème du stage : découverte de la recherche.

2014 - **Thomas DZIWOSZ**, Université Lille 1, 4 semaines.

Sujet de stage : « Etude de l'interférence entre le récepteur nucléaire FXR et la voie canonique Wnt/ β -caténine dans une lignée cellulaire hépatocytaire ».

Mémoire de stage.

Stagiaires de PACES (Première Année Commune aux Etudes de Santé)

2015 - **Salomé WINCKEL**, Université Lille 2, 4 semaines.

Thème du stage : découverte de la recherche.

Activités d'administration

2004-2007

Contrat/Consortium Européen « DIABESITY » (2004-2009)

- ✓ Gestion administrative du contrat européen DIABESITY (24 partenaires).
- ✓ Rédaction des rapports annuels d'activités de recherche de l'équipe du Pr B Staels pendant 3 ans.

2006-2008

ANR « FXR » (coordinateur : Pr B Staels)

Rédaction des rapports biannuels d'activités de recherche.

2004-2010

Contrat/Consortium Européen « HEPADIP » (2005-2010)

- ✓ Rédaction du projet scientifique et établissement du budget de l'équipe du Pr B Staels pour la soumission d'un nouveau contrat européen HEPADIP accepté en 2005 (26 partenaires).
- ✓ Rédaction des rapports annuels d'activités de recherche de l'équipe du Pr B Staels.
- ✓ Participation active à l'organisation de l'Assemblée Annuelle du Consortium à Lille (Institut Pasteur de Lille, Lille, 2008).

2012-2014

ANR « FXRen(ergy) » (coordinateur : Pr B Staels)

- ✓ Participation active à la rédaction du projet scientifique et à l'établissement du budget.
- ✓ Participation à la rédaction des rapports d'activités de recherche.

2013-2018

Contrat/Consortium Européen « RESOLVE » (2013-2018)

- ✓ Participation (début 2012) active à la rédaction du projet scientifique et établissement de la prévision de budget et de personnel pour l'équipe du Pr B Staels pour la soumission d'un nouveau contrat européen RESOLVE accepté en mai 2012 (12 partenaires).
- ✓ Participation active à la rédaction des rapports annuels d'activités de recherche de l'équipe du Pr B Staels.
- ✓ Au début de chaque année civile, établissement du **budget annuel prévisionnel** et de **l'implication prévisionnelle annuelle du personnel** (en temps-homme) **en interne** de RESOLVE pour l'Unité en fonction du travail scientifique prévu au vu des objectifs du contrat et revu en fonction des résultats obtenus l'année précédente et transmission de ces informations aux personnels administratifs/financiers des institutions.
- ✓ En cours d'année, chaque mois, collecte et vérification des **feuilles de temps** remplies par mes collègues scientifiques impliqués dans le contrat RESOLVE (en tout 9 personnes de l'Unité) et transmission aux personnels administratifs/financiers des institutions.
- ✓ En fin d'année civile, en coordination avec les personnels administratifs/financiers des institutions, **aide aux justifications administratives et financières du contrat**, travail qui se fait en parallèle et en coordination de la rédaction des rapports scientifiques annuels, soit informations relatives aux

différents déplacements (lieu et objectifs, noms des personnes présentes, compte-rendus) réalisés dans le cadre de RESOLVE, justifications des différents achats (classification par type de produits et/ou d'expériences) réalisés sur le compte RESOLVE, rédaction et remplissage des documents relatifs à la diffusion des données scientifiques générées par l'Unité 1011 dans le cadre de RESOLVE (publications, conférences orales et affichées, résumé de notre implication scientifique, ...).

Depuis septembre 2017

ERC IMMUNOBILE du Pr Bart STAELS (2016-2021)

Mise en place, au sein de l'Unité et en interaction avec les personnels administratifs des institutions, des **feuilles de temps** pour mes collègues scientifiques impliqués dans l'ERC (en tout 6 personnes de l'Unité).

Compétences techniques acquises

Biologie cellulaire

Culture de lignées adhérentes et non-adhérentes (humaines et murines, de différentes origines tissulaires), transfections transitoires (électroporation, précipité calcium, lipofectants, ...), marquages métaboliques (thymidine, méthionine), cytométrie en flux, dosages enzymatiques, préparation (par perfusion du foie) et culture d'hépatocytes primaires de souris, isolement de la fraction stromale de tissu adipeux de souris et mise en culture et différenciation des pré-adipocytes en adipocytes.

Biologie Moléculaire

Clonage, amplification et extraction d'ADN, extraction d'ARN totaux et poly(A), PCR, RT-PCR, PCR quantitative, Northern Blot, transcription/traduction *in vitro*, gel de retard de migration sur gel (EMSA).

Biochimie

Purification de protéines, gels en une dimension (SDS-PAGE) et deux dimensions, Western Blot, immunoprécipitation, chromatographie d'affinité, purification de complexes protéiques sur oligonucléotides biotinylés, ChIP (ImmunoPrécipitation de la Chromatine), immunohistochimie/immunofluorescence sur coupes de tissus/culture de cellules en monocouche.

II. Activités d'enseignement

II. 1. Activités d'enseignement au cours de la thèse

2000-2001

Statut : vacataire

Encadrement de **TD de Bureautique** (64 heures équivalent TD)

Université-Formation : Université Paris III, Licence de Langues Etrangères et Appliquées (L.E.A.).

Responsable du module : Pr G. Bossuet

Thème des TD : initiation des étudiants à deux outils informatiques, le logiciel de traitement Word et les moteurs de recherche d'Internet.

Implications personnelles : encadrement de deux groupes d'étudiants pendant un semestre ; aide aux étudiants dans la réalisation de deux projets notés.

2001-2002

Statut : vacataire

Encadrement de **TD** (8 heures équivalent TD) **et TP** (40 heures équivalent TD) **de Physiologie Animale**

Université-Formation : Université de Versailles-Saint-Quentin en Yvelines, D.E.U.G. SV 2^{ème} année.

Responsable du module : Dr M. Sautel

Thème des TD : programme de la deuxième année de D.E.U.G. SV (osmolarité, équilibres électrique et osmotique, potentiels d'équilibre et de repos de différents types cellulaires, potentiel d'action d'une cellule nerveuse, technique du patch-clamp, ...)

Thème des TP : métabolisme à l'échelle de l'organisme (mesure de l'intensité et du quotient respiratoire chez la souris en fonction de la température externe et du régime alimentaire), étude des mécanismes ioniques du potentiel de repos et d'action d'une cellule nerveuse (simulation avec le logiciel Neurosim), transport du glucose dans l'intestin (étude du transport transépithélial du glucose dans l'intestin de rat), étude de la dégradation de l'amidon (interface physiologie animale/biochimie).

Implications personnelles : encadrement d'un groupe de TD et de quatre groupes de TP pendant un semestre ; participation active à la mise en place d'un TP.

II. 2. Activités d'enseignement en tant que Maître de Conférences

Depuis septembre 2006

Université/Faculté : Université Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.

Statut : Maître de Conférences en Biologie Cellulaire.

Responsable du Service de Biologie Cellulaire : Pr Sophie LESTAVEL

✓ **1^{ère} année des études de Pharmacie** (2006-2010) – 1^{ère} année commune des études de Médecine/Pharmacie (**P.A.C.E.S.**) (depuis 2010)

Encadrement : **ED** (12 heures équivalent ED) de **Biologie Cellulaire**

Thèmes abordés : la cellule eucaryote, la membrane plasmique, le trafic des petites molécules, la matrice extracellulaire, le cytosquelette, la mitochondrie, le noyau, le cycle cellulaire, la division cellulaire, les récepteurs, la différenciation cellulaire et l'apoptose.

✓ **2^{ème} année des études de Pharmacie**

- Encadrement : **ED** (3 heures équivalent ED) et **TP** (60 heures équivalent ED) du **tronc commun de Biologie Cellulaire**.

Thèmes abordés en ED : préparation des TP de Biologie Cellulaire, notions en culture cellulaire, transfections, PCR en temps réel et Western/Dot blot.

Thèmes des TP : « Rôle des transporteurs OCT1 et OCT3 dans la régulation de la néoglucogénèse par la metformine (MF) dans les hépatocytes – Effets de leur invalidation sur la réponse de cellules hépatocytaires à la MF ».

Techniques abordées en TP : dosage des protéines totales, comptage de cellules, dosage de glucose sécrété, immunofluorescence, dot blot.

Implications particulières : responsable des TP ; participation active à la mise en place de la nouvelle thématique des TP en 2009-2010.

- Encadrement : **ED** (3 heures équivalent ED) et **TP** (18 heures équivalent ED) de l' **option** « Maladies monogéniques et multifactorielles : de l'identification des gènes aux stratégies thérapeutiques de Biologie Cellulaire ».

Thèmes abordés en ED : discussion autour des posters réalisés par les étudiants.

Techniques abordées en TP : caryotype, bioinformatique.

✓ **4^{ème} année des études de Pharmacie**

Encadrement : **ED** (1,5 heures équivalent ED) de **biothérapies**.

Thèmes abordés en ED : analyse d'articles présentés par les étudiants.

✓ **1^{ère} année de DEUST TOPS**

Encadrement : **CM** (6 heures équivalent ED) de **Biologie Cellulaire**.

Thèmes abordés en CM : la cellule eucaryote, la membrane plasmique, le transport des petites molécules, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les lysosomes, le trafic intracellulaire.

✓ **1^{ère} année de DEUST Santé Environnement**

Encadrement : **ED** (3 heures équivalent ED) de **Biologie Cellulaire**.

Thèmes abordés en ED : la cellule eucaryote, les techniques d'étude de la cellule, la membrane plasmique, le transport des petites molécules, le trafic intracellulaire, le cytosquelette, le noyau, la mitochondrie, l'adressage des protéines.

✓ **2^{ème} année des DEUST Santé Environnement**

Encadrement : **ED** (3 heures équivalent ED) et **TP** (8 heures équivalent ED) de **Biologie Cellulaire**.

Thèmes abordés en ED : les méthodes d'étude de la cellule, la communication cellulaire, la matrice extracellulaire, les jonctions cellulaires, le cycle cellulaire, la division cellulaire, la différenciation cellulaire, l'apoptose.

Techniques abordées en TP : immunofluorescence, fractionnement cellulaire.

✓ **Master 1 Biologie-Santé** (depuis 2015-2016)

Encadrement : **CM** (4.5 heures équivalent ED) et **ED** (1 heure équivalent ED).

Intitulé du cours : le tissu adipeux

Thèmes abordés en ED : application du cours à l'aide de résultats d'articles publiés.

✓ **Master 2 Biologie-Santé** (depuis 2017-2018)

Encadrement : **Journée Thématique** (n°21) (6 heures équivalent ED).

Thèmes : Récepteurs membranaires et voies de signalisation associées.

III. Activités de recherche

III. 1. Stages et préparation de la thèse

1/ Stages de licence, maîtrise et D.E.A.

Juillet-août 1997 : stage de Licence du Magistère de Génétique

Equipe du Dr Vladimir LAZAR, Département de Biologie Clinique (Pr Dominique BELLET), **Institut Gustave Roussy** (Villejuif, 94).

Sujet : « Diagnostic et suivi biologique des Cancers Médullaires de la Thyroïde (CMT) »

L'équipe avait pour mission de diagnostiquer la présence de mutations dans le gène RET susceptibles d'entraîner le développement de **Cancer Médullaire de la Thyroïde (CMT)** chez les membres de familles à risque. Ce stage m'a permis de faire mes premiers pas dans un laboratoire de recherche et d'apprendre des techniques de base de biologie moléculaire (extraction et quantification d'ADN, PCR, ...), ainsi que des techniques plus spécialisées utilisées pour la mise en évidence de mutations ou de polymorphismes dans les gènes (technique SSCP, séquençage).

Ce stage d'un mois et demi a donné lieu à la réalisation d'un poster qui a été noté dans le cadre du Magistère de Génétique.

Mars-juillet 1998 : stage de Maîtrise du Magistère de Génétique

Equipe de Foetopathologie (Dr Anne-Lise DELEZOIDE), Service d'Histo-embryo-cytogénétique (Pr Michel VEKEMANS), **Hôpital Necker Enfants-Malades** (Paris, 15^{ème}).

Sujet : « Analyse morfo-fonctionnelle des mutations humaines des FGFR »

L'équipe (actuellement à l'Hôpital Robert Debré), en parallèle d'une activité médicale impliquée dans le diagnostic de maladies du fœtus humain, mène une activité de recherche portant sur les maladies liées à des mutations dans les gènes codant les récepteurs des FGF (**f**ibroblast **g**rowth **f**actor) (FGFR) à l'aide d'analyses morfo-fonctionnelles. Ces maladies se caractérisent principalement par des **malformations importantes des os du crâne et/ou des os des membres**. Afin d'aborder les mécanismes mis en jeu dans le développement de ces maladies, j'ai participé à l'étude de l'expression de différents gènes, cibles potentielles des FGFR et connus pour être impliqués dans la formation de ces deux types d'os. En utilisant des prélèvements osseux effectués sur des fœtus humains normaux ou porteurs de mutations des FGFR et provenant d'avortements volontaires ou thérapeutiques, j'ai réalisé une série d'expériences d'immunohistochimie à l'aide d'anticorps spécifiques des différentes protéines d'intérêt.

Ce stage de cinq mois a donné lieu à la rédaction d'un mémoire, soutenu oralement et noté dans le cadre du Magistère de Génétique.

Septembre 1998-août 1999 : stage de D.E.A.

Equipe « Biologie moléculaire et différenciation » (Pr P. ROUGET), Unité de Génétique Oncologique CNRS UMR 8125 (Pr J. FEUNTEUN), **Institut Gustave Roussy** (Villejuif, 94).

Sujet : « Analyse fonctionnelle de la région promotrice du gène *npdc-1* »

L'équipe du Pr P. Rouget (actuellement dissoute suite au départ à la retraite des deux chercheurs) avait identifié un gène, le gène *npdc-1* (*neural proliferation differentiation control-1*) dont le produit semblait impliqué dans le contrôle de la **prolifération et de la différenciation des cellules nerveuses**. L'équipe s'attachait à caractériser les mécanismes mis en jeu par cette protéine dans le contrôle de ces deux processus cellulaires.

Mon travail a consisté à étudier les mécanismes mis en jeu lors de la régulation transcriptionnelle de l'expression de ce gène dans les cellules nerveuses en cours de différenciation. Pour mener à bien cette étude, je me suis intéressée à la région promotrice de ce gène. Par une série de délétions de ce promoteur, j'ai pu mettre en évidence l'importance, dans cette régulation, d'une région contenant des sites potentiels de fixation pour les facteurs de transcription E2F, Sp1 et Krox. Des expériences de mutations de ces différents sites nous ont permis de montrer l'implication du site Krox dans la régulation de l'expression du gène *npdc-1*.

Ce stage m'a permis d'apprendre et de maîtriser des techniques classiquement utilisées pour l'étude des promoteurs des gènes eucaryotes (clonage d'ADN, séquençage d'ADN, transfections transitoires dans différents modèles cellulaires, retard de migration sur gel).

Mon travail de D.E.A. a donné lieu à la rédaction d'un article que je signe en deuxième auteur dans la revue *Gene* :

Evrard C., Caron S. and Rouget P.. Functional analysis of the *NPDC-1* gene. *Gene* (2004) **343** : 153-163.

2/ Préparation de la thèse

Période : septembre 1999-mai 2004

Equipe « Régulation de la différenciation érythroïde et mégacaryocytaire » (Dr Isabelle DUSANTER-FOURT), Département d'Hématologie (Dr Sylvie GISSELBRECHT, Dr Paul-Henri ROMEO), **Institut Cochin** (Unité INSERM 567 ; Pr A. KAHN) (Paris, 14^{ème}).

Sujet : « Etude de régulations transcriptionnelles et traductionnelles induites par la thrombopoïétine (TPO) dans la cellule mégacaryocytaire »

L'équipe du Dr I. Dusanter-Fourt s'intéresse aux mécanismes mis en jeu lors de l'induction de la **différenciation mégacaryocytaire** (**Figure 1**). Cette différenciation conduit à la production de cellules géantes de la moelle osseuse, les **mégacaryocytes**, qui donneront naissance aux **plaquettes du sang** dont le rôle est majeur dans la fonction de coagulation du sang et dans le maintien de l'intégrité des vaisseaux sanguins. La différenciation mégacaryocytaire, et ainsi la production plaquettaire, est sous le contrôle principalement d'une cytokine, la **thrombopoïétine (TPO)**. Cette étude est réalisée à l'aide de la lignée cellulaire UT7-mpl, capable de s'engager dans la différenciation mégacaryocytaire en présence de thrombopoïétine.

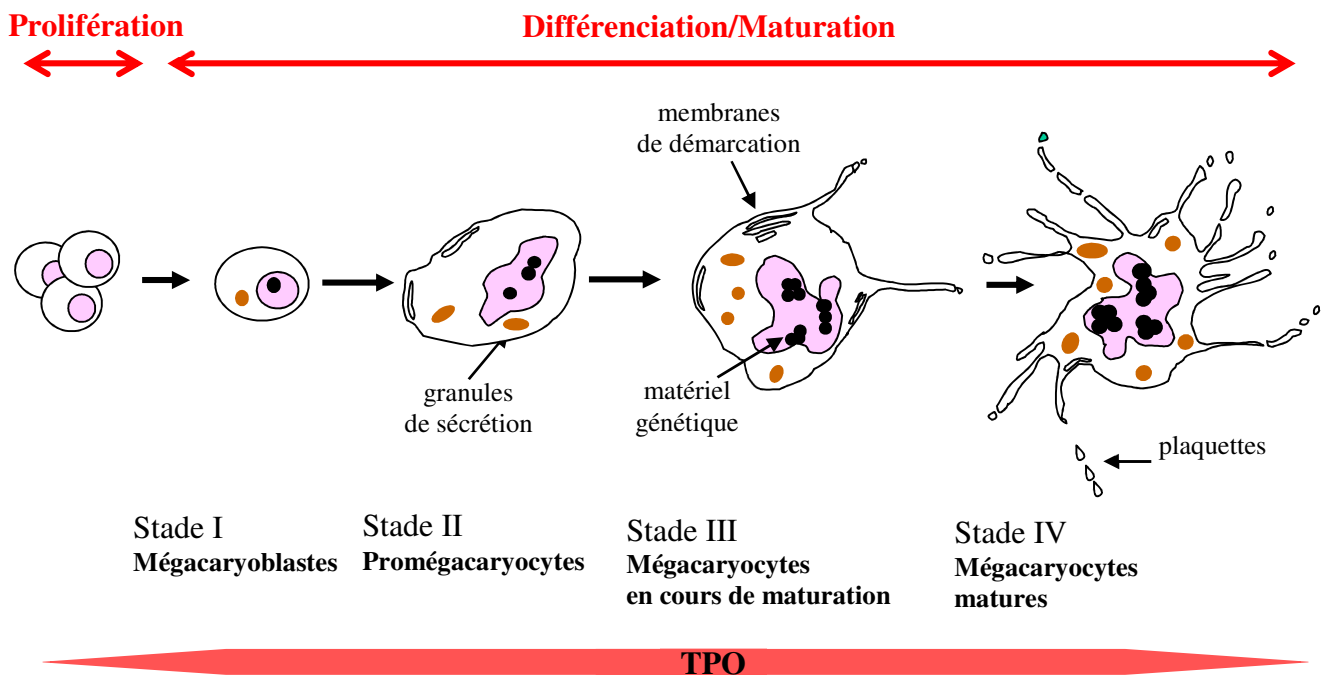


Figure 1. La différenciation mégacaryocytaire ou mégacaryocytopoïèse. La différenciation mégacaryocytaire conduit à la formation de cellules géantes, les **mégacaryocytes**, qui, par fragmentation de leur cytoplasme, vont libérer de petites particules de cytoplasme entourées d'une membrane et sans noyau, les plaquettes. La première étape du développement des mégacaryocytes consiste en une phase de prolifération intense de leurs progéniteurs au niveau de la moelle osseuse. La seconde étape du développement conduisant aux mégacaryocytes, l'étape de différenciation/maturation, peut être considérée comme la superposition de deux événements majeurs qui se chevauchent au moins partiellement dans le temps : une augmentation de la ploïdisation et une maturation du cytoplasme. Cette étape est classiquement divisée en quatre stades, notés stades I à IV, en fonction de l'aspect morphologique de la cellule (noyau et cytoplasme), de sa taille et du ratio

noyau/cytoplasme. La différenciation mégacaryocytaire, et ainsi la production plaquettaire, est sous le contrôle principalement d'une cytokine, la thrombopoïétine (TPO). Mon travail de thèse s'est intégré à **deux niveaux** dans cette étude de la différenciation mégacaryocytaire et a donné lieu à la **rédaction de deux articles que je signe en premier auteur** qui ont été publiés dans la revue *Molecular and Cellular Biology*.

2.1. La régulation de l'expression du gène de la cycline D1, un régulateur important du cycle cellulaire, par la thrombopoïétine

J'ai contribué à l'étude de la régulation transcriptionnelle de l'expression du gène de la cycline D1, un régulateur important du cycle cellulaire, par la thrombopoïétine lors de l'induction de la différenciation mégacaryocytaire. Cette induction s'effectue par un mécanisme totalement nouveau qui fait intervenir une coopération fonctionnelle entre les facteurs de transcription STAT5 et Oct-1. Nous avons montré que ces deux facteurs, en réponse à la thrombopoïétine, interagissent et s'associent pour se fixer sur un élément Oct-STAT du promoteur et en réguler l'activité (**Figure 2**).

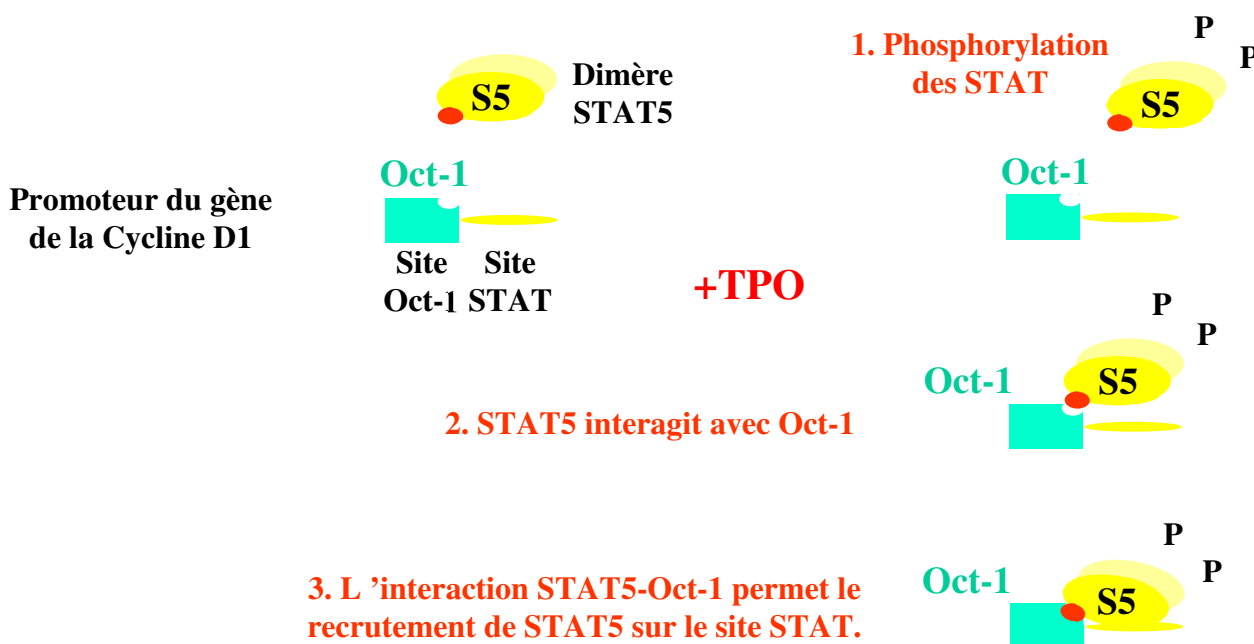


Figure 2. Régulation de l'expression du gène de la Cycline D1 par le complexe STAT5-Oct1 en réponse à la thrombopoïétine. L'expression du gène de la cycline D1 est régulée au niveau transcriptionnel par la thrombopoïétine (TPO) lors de l'induction de la différenciation mégacaryocytaire. Cette régulation s'effectue par un mécanisme qui fait intervenir une coopération fonctionnelle des facteurs de transcription STAT5 et Oct-1, ces deux facteurs s'associant pour se fixer sur un élément Oct-site STAT présent dans le promoteur du gène de la cycline D1.

Cette étude a permis la rédaction d'un article que je signe en co-premier auteur et qui a été publié dans la revue *Molecular and Cellular Biology* :

Magné S.*, Caron S.*, Charon M., Rouyez M.C. and Dusanter-Fourt I.. STAT5 and Oct-1 form a stable complex that modulates cyclin D1 expression. *Mol. Cell. Biol.* (2003) 23 : 8934-8945. (« * » = co-premiers auteurs)

2.2. La régulation de la machinerie traductionnelle globale par la thrombopoïétine

Un certain nombre d'observations et de résultats préliminaires suggéraient que la thrombopoïétine était susceptible de réguler l'expression des gènes à un niveau traductionnel. J'ai cherché à vérifier cette hypothèse et montré que la thrombopoïétine régule la traduction au niveau de son initiation, en agissant sur l'activité des deux complexes impliqués dans cette étape, les complexes d'initiation 43S et eIF4F. La régulation la plus originale (et qui fait l'objet de notre article) concerne la régulation du complexe eIF4F (**Figure 3**) : en réponse à la thrombopoïétine, lors de l'induction de la différenciation mégacaryocytaire, seule l'isoforme eIF4GII (tandis que la quantité de l'autre isoforme, eIF4GI, n'est pas limitante dans la cellule) est recrutée au niveau des complexes eIF4F nouvellement formés. Ces résultats étaient nouveaux et surtout très originaux car ils mettaient en évidence pour la première fois, d'une part, des rôles différents pour les deux isoformes eIF4GI et eIF4GII au cours de l'initiation de la traduction ; et d'autre part, des mécanismes de régulation de la machinerie traductionnelle différents lors de l'induction de la différenciation cellulaire de ceux décrits lors de l'induction de la prolifération cellulaire.

Cette étude a permis la rédaction d'un article que je signe en premier auteur et qui a été publié dans la revue *Molecular and Cellular Biology* :

Caron S., Charon M., Cramer E., Sonenberg N. and Dusanter-Fourt I.. Selective modification of eIF4F at the onset of cell differentiation : recruitment of eIF4GII and long-lasting phosphorylation of eIF4E. *Mol. Cell. Biol.* (2004) 24 : 4920-4928.

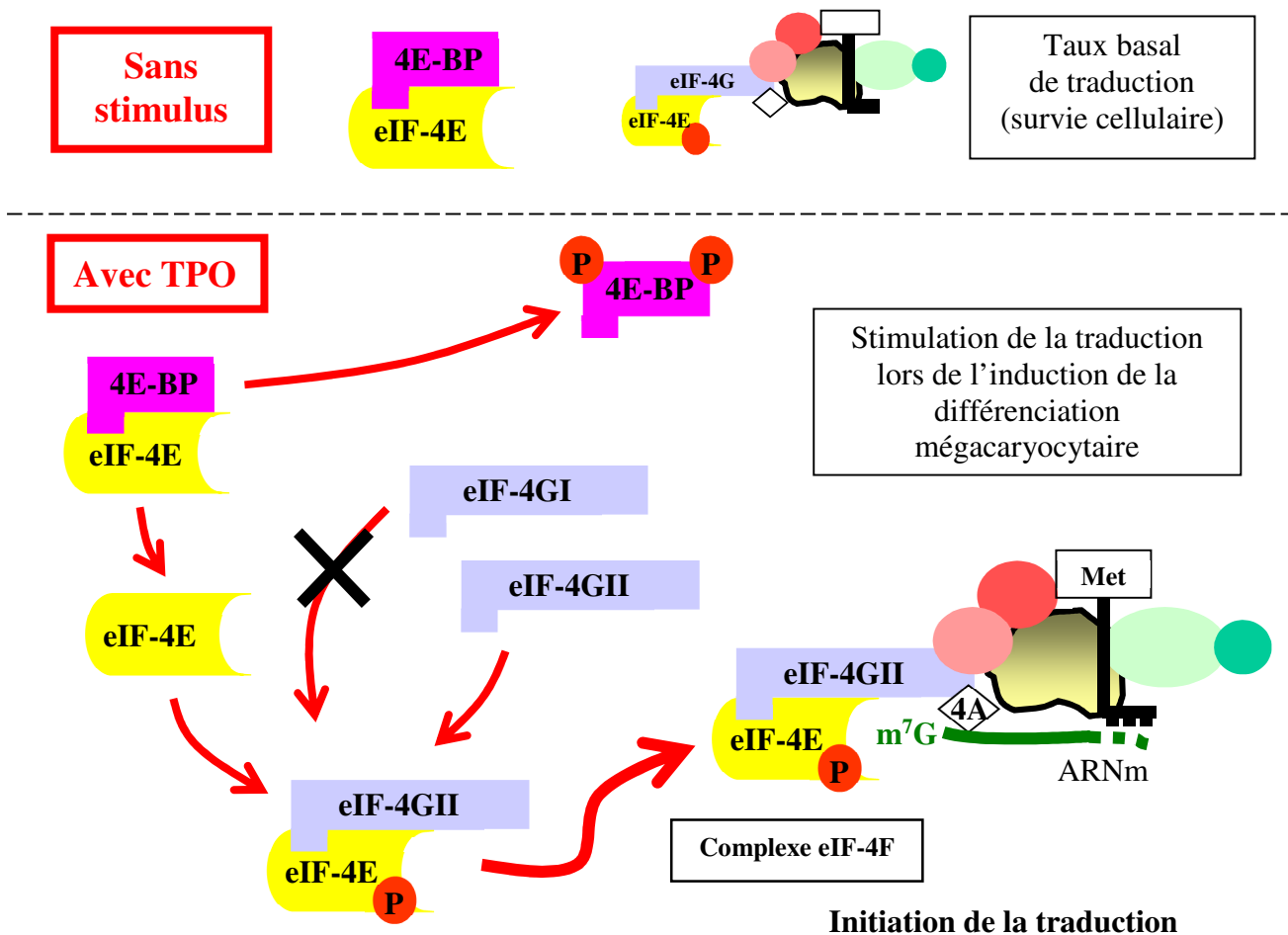


Figure 3. Régulation de l'initiation de la traduction des ARNm par la thrombopoïétine (TPO). L'induction de la différenciation mégacaryocytaire par la thrombopoïétine est associée à une phosphorylation rapide, nette et soutenue dans le temps du facteur qui se fixe à la coiffe des ARNm, le facteur de l'initiation eIF4E. Cette phosphorylation est corrélée à une phosphorylation faible, mais reproductible, de la protéine 4E-BP1, qui libère alors la protéine eIF4E. En parallèle, l'isoforme eIF4GII, et pas l'isoforme eIF4GI, est recrutée de façon sélective au sein du complexe eIF4F, tandis que le niveau d'expression de ces deux facteurs n'est pas modifié par la thrombopoïétine. La formation de ces complexes eIF4F en réponse à la TPO entraîne une augmentation de l'initiation et donc une augmentation du niveau de la traduction lors de l'induction de la différenciation mégacaryocytaire.

III. 2. Stage post-doctoral et activités en tant que Maître de Conférences

Unité INSERM UMR 1011 « Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète » (Pr Bart STAELS) ; INSERM, Université Lille Nord de France, Institut Pasteur de Lille, Lille.

Sujet : « Etude du rôle du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) dans le contrôle du métabolisme dans le foie et le tissu adipeux »

Statut : stagiaire post-doctorale (2004-2006) ; Maître de Conférences (depuis 2006)

1/ Le contexte scientifique : le récepteur nucléaire FXR

J'ai rejoint l'équipe du Pr B STAELS au sein de l'Unité INSERM 1011 (ex-U545) en juin 2004, à l'issue de ma thèse, pour un stage post-doctoral. En septembre 2006, j'ai été recrutée en tant que Maître de Conférences en Biologie Cellulaire à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Lille 2 et j'ai pu poursuivre mon activité de recherche au sein de l'Unité dirigée par le Pr B STAELS.

Mes projets de recherche commencés au cours de mon stage post-doctoral ont été poursuivis lorsque j'ai pris mes fonctions en tant que Maître de Conférences en 2006 et ont réellement commencé à permettre la publication d'articles après 2006. De ce fait, je présenterai dans cette partie les projets de recherche principaux auxquels j'ai participé au sein de l'Unité et qui ont permis des publications, sans faire de distinction entre mon stage post-doctoral et mes activités depuis mon recrutement (Partie 'Projets finis'), et les projets de recherche principaux auxquels je participe actuellement (Partie 'Projets en cours et futurs').

Thématique générale de l'Unité INSERM 1011

L'Unité dirigée par le Pr B. Staels s'intéresse à la superfamille des récepteurs nucléaires et plus précisément cherche à caractériser leurs implications dans le **développement des maladies métaboliques prédisposant à l'athérosclérose** (pathologie des artères), telles que l'insulino-résistance, les dyslipidémies, l'obésité, le diabète de type 2. Ces désordres métaboliques sont associés à des perturbations dans l'expression des gènes impliqués dans le contrôle du métabolisme lipidique et glucidique et l'inflammation dans plusieurs organes, dont le foie, le tissu adipeux, l'intestin, le pancréas. L'expression d'un certain nombre de ces gènes est régulée par les membres de **la superfamille des récepteurs nucléaires** (PPAR α , PPAR γ , PPAR δ , FXR, LXR, Rev-erb α , ...), impliqués dans la régulation de nombreux processus métaboliques dans différents tissus. Ces récepteurs agissent en régulant l'expression de nombreux gènes en tant que facteur de transcription. Un certain nombre, mais pas tous puisque certains restent 'orphelins', ont des ligands naturels identifiés et des ligands synthétiques ont été développés pour certains. Cette potentialité d'avoir une activité régulable par des ligands permet des perspectives thérapeutiques.

Je m'intéresse plus particulièrement au **récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor FXR**. *Je fais ci-dessous un état des connaissances sur le récepteur FXR au milieu des années 2000, lorsque les projets dans lesquels j'ai été impliquée ont commencé.*

Le récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR)

Généralités sur le récepteur FXR - Le récepteur FXR a été identifié en 1995 en tant que récepteur régulable par le farnésol (Forman BM et *al.*, 1995). Toutefois, ce n'est que quelques années plus tard en 1999 que son identification en tant que récepteur aux acides biliaires a permis réellement une étude de ses fonctions (Parks DJ et *al.*, 1999 ; Makishima M et *al.*, 1999 ; Sinal CJ et *al.*, 2000). FXR est principalement exprimé dans le foie, l'intestin, le rein, le tissu adipeux, le pancréas et les glandes surrénales (pour revue, Lefebvre P et *al.*, 2009). Il intervient dans la régulation du métabolisme des acides biliaires, des lipides et des glucides dans plusieurs de ces organes, dans le maintien de l'homéostasie énergétique systémique et dans la régulation de la différenciation et la fonction de l'adipocyte blanc (**Figure 4**) (pour revue, Mazuy C et *al.*, 2015). Ce récepteur nucléaire agit en tant que facteur de transcription, seul ou associé au récepteur nucléaire Retinoid X Receptor (RXR), pour respectivement réprimer ou activer l'expression de ses gènes cibles.



Figure 4. Le récepteur nucléaire FXR régule le métabolisme dans plusieurs organes. Pour revues (Lefebvre P, 2009 ; Mazuy C, 2015). Figure adaptée d'après Prawitt J and Staels B, Drugs, 2010.

Les acides biliaires et le cycle entérohépatique - Les acides biliaires sont des produits de dégradation du cholestérol. Les acides biliaires primaires sont produits dans le foie et sécrétés dans l'intestin grêle où ils vont permettre l'absorption des graisses alimentaires et des vitamines liposolubles (pour revue, Mazuy C et al., 2015). 95% de ces acides biliaires sont ensuite réabsorbés par les entérocytes au niveau de l'iléon et transportés vers le foie par la veine porte. Les acides biliaires réabsorbés seront re-conjugués dans le foie et de nouveau sécrétés lors du repas suivant. En outre, de nouveaux acides biliaires seront synthétisés dans le foie pour composer la perte dans les fèces (environ 5%). Cette circulation des acides biliaires entre le foie et l'intestin constitue la circulation entéro-hépatique.

Les acides biliaires en tant que molécules de signalisation - Longtemps considérés comme de simples détergents nécessaires à l'absorption des lipides, les acides biliaires agissent aussi en tant que molécules de signalisation pour réguler l'homéostasie énergétique. Ainsi, la composition du pool des

acides biliaires est altérée chez les rongeurs et l'humain dans un contexte d'obésité, de résistance à l'insuline et de diabète de type 2 (pour revue, Prawitt J et al., 2014) et quelques études récentes montrent qu'il en est de même en cas de pathologie du « foie gras » (non alcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH)) (Aranha MM et al., 2008 ; Kalhan SC et al., 2011 ; Ferslew BC et al., 2015). Des études mettent en outre en évidence un rôle important de la flore bactérienne intestinale dans la composition du pool d'acides biliaires (pour revue, Mazuy C et al., 2015). Ainsi, une altération de ce pool est décrite en cas de dysbiose associée au diabète de type 2 et à l'obésité. Les acides biliaires interviennent dans la régulation du métabolisme en se fixant et activant le récepteur membranaire à sept séquences transmembranaires TGR5 (pour revue, Duboc H et al., 2014) et le récepteur nucléaire FXR (pour revue, Mazuy C et al., 2015).

FXR régule le métabolisme des acides biliaires – Récepteur des acides biliaires, FXR intervient dans la régulation de leur métabolisme. Ainsi, il empêche l'accumulation des acides biliaires, accumulation qui est toxique, dans le foie en inhibant leur synthèse et en stimulant leur sécrétion, *via* la bile, dans l'intestin grêle. Dans l'intestin, FXR favorise la réabsorption des acides biliaires en régulant positivement leur transporteurs (pour revues, Kuipers F et al., 2007 ; Lefebvre P et al., 2009 ; Mazuy C et al., 2015).

FXR régule le métabolisme des lipides – La génération de souris déficientes pour FXR (FXR^{-/-}) a permis de mettre en évidence une implication de FXR dans la régulation du métabolisme des lipides et lipoprotéines. En effet, ces souris présentent des niveaux élevés de cholestérol et de triglycérides plasmatiques et hépatiques (Sinal CJ et al., 2000). De plus, FXR régule l'expression de plusieurs apolipoprotéines impliquées dans le transport et le métabolisme des lipides (pour revue, Lefebvre P et al., 2009). Ainsi, FXR est impliqué dans la régulation du métabolisme des high density lipoproteins/low density lipoproteins (HDL/LDL), mais les résultats sont controversés (pour revue, Mazuy C et al., 2015). Des résultats obtenus *in vitro* mettent en effet en évidence une diminution du LDL-cholestérol circulant après activation de FXR, mais ces résultats ne sont pas retrouvés *in vivo*. Le traitement de patients souffrant de NAFLD/NASH par l'acide obéticholique (INT-747), un ligand de FXR (en fait un CDCA (Chenodeoxycholic acid), un acide biliaire agoniste de FXR, modifié) a même mis en évidence une augmentation du LDL-cholestérol plasmatique (Mudaliar S et al., 2013). Concernant le métabolisme du HDL-cholestérol, FXR réprime l'expression de l'apolipoprotéine AI et réprime celle de la protéine CETP (Cholesteryl ester transfer protein) (pour revue, Mazuy C et al., 2015). Les études *in vivo* mettent effectivement en évidence une diminution des niveaux de HDL-cholestérol. Une étude suggère en outre une répression de la lipogenèse et de la synthèse des triglycérides par FXR (Watanabe M et al., 2004) et une autre, une diminution de l'assemblage des very low density lipoproteins (VLDL) (Hirokane H et al., 2004).

FXR régule le métabolisme du glucose – Dans l'hépatocyte, l'expression de FXR est régulée *in vitro* par le glucose et l'insuline et dans le foie, l'expression de FXR est dérégulée dans des modèles murins de diabète (Duran-Sandoval D et al., 2004). En outre, cette expression varie au cours de changements nutritionnels chez la souris. Ainsi, les souris déficientes pour FXR présentent un métabolisme accéléré de l'utilisation du glucose après une réalimentation riche en glucose par rapport aux souris sauvages (Duran-Sandoval D et al., 2005a). Ces résultats suggéraient une régulation des voies du

métabolisme du glucose par FXR, notamment une régulation négative des gènes de la glycolyse et de la lipogenèse par FXR (Duran-Sandoval D et al., 2005a). Il est à noter que les souris FXR^{-/-} présentent une intolérance au glucose, ainsi qu'une résistance à l'insuline au niveau périphérique (Cariou B et al., 2006). En outre, plusieurs études mettent en évidence un rôle de FXR dans le contrôle de la néoglucogénèse dans le foie, mais les résultats sont contradictoires (Stayrook KR et al., 2005 ; Ma K et al., 2006 ; Zhang Y et al., 2006). En effet, cette régulation semble négative *in vivo* et positive *in vitro*.

Au niveau de l'intestin, FXR est exprimé dans les cellules épithéliales (entérocytes) et son invalidation chez la souris retarde l'absorption du glucose (van Dijk TH et al., 2009). FXR est aussi exprimé dans les cellules intestinales entéro-endocrines L dans lesquelles il inhibe la glycolyse et de ce fait, la sécrétion du glucagon-like peptide-1 (GLP-1) qui stimule la sécrétion de l'insuline par le pancréas en réponse au glucose (Trabelsi MS et al., 2015). Enfin, des études récentes établissent un lien entre la modification de la composition du pool des acides biliaires par le microbiote et l'activité/activation de FXR, en lien avec une prise de poids et le développement d'une pathologie du foie (NAFLD/NASH) (Sayin SI et al., 2013 ; Parseus A et al., 2016).

FXR, une cible thérapeutique – Des stratégies thérapeutiques pour moduler le pool des acides biliaires ou l'activité des voies régulées par les acides biliaires, et notamment l'activité de FXR, ont été mises en œuvre. Ainsi, des séquestrants (ou résines) oraux des acides biliaires, qui interrompent le cycle entéro-hépatique, ont été utilisés pour réduire les taux de cholestérol, mais ont aussi permis d'améliorer le métabolisme lipidique et glucidique en cas de maladies métaboliques (pour revue, Kuipers F et al., 2014). Plus récemment, un agoniste synthétique de FXR, l'acide obéticholique (INT-747/OCA, Intercept Pharmaceuticals), un CDCA (acide chénodeoxycholique) modifié, a été développé (Pellicciari R et al., 2002). Initialement utilisé pour le traitement des cholestases associées à des cirrhoses biliaires primitives (Primary biliary cholangitis/cirrhosis (PBC)) (Fiorucci S et al., 2011), cet agoniste a montré des effets positifs sur le traitement du diabète de type 2 et de la stéatose hépatique. Les résultats de la phase II clinique ont effectivement mis en évidence une amélioration de la sensibilité à l'insuline, des marqueurs de l'inflammation et de la fibrose dans le foie chez des patients atteints de diabète de type 2 et de maladies du foie (Mudaliar S et al., 2013 ; Neuschwander-Tetri BA et al., 2015). Toutefois, la hausse des taux de LDL-cholestérol a entraîné une suspension des tests cliniques pour cette molécule.

2/ Projets finis

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à plusieurs fonctions de FXR dans la régulation du métabolisme du foie et du tissu adipeux, ce qui a donné lieu au développement de plusieurs projets (**Partie 2.1.**). Un projet en parallèle a porté sur la régulation de l'expression hépatique de l'apolipoprotéine CIII par le glucose (**Partie 2.2.**). *Ces projets ont fait l'objet d'un encadrement d'un étudiant Master 2, de deux co-encadrements de thèse et de l'encadrement d'un chercheur post-doctoral.*

2.1. Etude du rôle du récepteur FXR dans le métabolisme du foie et du tissu adipeux

Questions scientifiques définies dans la période 2004-2006

Plusieurs projets sur le rôle de FXR dans la régulation du métabolisme du foie et du tissu adipeux (Projets 1, 2 & 4) ont été menés, en parallèle d'une étude portant sur l'étude de deux modèles hépatiques humains (Projet 3) :

Projet 1. Identification des mécanismes d'action de FXR dans la régulation de la différenciation adipocytaire.

Projet 2. Etude du rôle de FXR dans le développement de l'obésité induite génétiquement ou par la nourriture.

Projet 3. Sélection de modèles hépatiques humains pour l'étude de la régulation du métabolisme du glucose au niveau du foie.

Projet 4. Identification des mécanismes moléculaires d'action de FXR sur la voie de la glycolyse/lipogenèse dans le foie - Interférence de FXR avec la voie ChREBP – Exemple du gène de la Liver Pyruvate Kinase (LPK).

Financements

L'ensemble de ces projets a été financé en grande partie par l'ANR « FXR » (2005-2008 ; porteur du projet : Bart Staels), par le contrat Européen HEPADIP (2005-2010 ; porteur du projet : Bart Staels) et par l'ANR « FXRen(ergy) » (2012-2014 ; porteur du projet : Bart Staels).

Projet 1. Identification des mécanismes d'action de FXR dans la régulation de la différenciation adipocytaire.

Thésards et/ou stagiaires post-doctoraux impliqués dans le projet : Mouaadh Abdelkarim (Thèse, 2005-2010), Janne Prawitt (Stagiaire post-doctorale, 2007-2010).

Contexte et question scientifique :

Le rôle de FXR hépatique est primordial dans la régulation du métabolisme (pour revues, Lefebvre P et al., 2009 ; Mazuy C et al., 2015), mais de plus en plus de données suggèrent un rôle de FXR exprimé dans les tissus périphériques. Deux premières études ont montré une expression et une fonction de FXR au niveau du tissu adipeux (Cariou B et al., 2006 ; Rizzo G et al., 2006). Ainsi, FXR

est exprimé dans le tissu adipeux de souris et son expression augmente après un régime riche en graisses. Il est exprimé aussi dans des modèles murins d'adipocytes et son expression augmente au cours de la différenciation. En outre, des fibroblastes embryonnaires de souris (Mouse Embryonic Fibroblasts ; MEFs) déficientes pour FXR (MEFs FXR^{-/-}) et différenciés *in vitro* se différencient moins bien que des MEFs sauvages (Cariou B et al., 2006). Toutefois, le mécanisme d'action de FXR restait méconnu. **L'objectif de ce projet était d'étudier les mécanismes mis en jeu dans le rôle de FXR dans la différenciation et la fonction de l'adipocyte.**

Résultats obtenus :

Nous avons montré que la présence de FXR était nécessaire pour avoir, *in vivo* et *in vitro*, une totale activation du récepteur nucléaire PPAR γ (Tontonoz P et al., 1994), un facteur de transcription qui joue un rôle clé dans la différenciation adipocytaire (Abdelkarim M et al., 2010). Ainsi, l'induction de l'expression des gènes cibles de PPAR γ est plus faible dans le tissu adipeux des souris FXR^{-/-} traitées par la rosiglitazone que dans des souris sauvages. De même, une activation de PPAR γ dans des MEFs FXR^{-/-} ne rétablit pas une différenciation adipocytaire totale. Les MEFs FXR^{-/-} différenciées *in vitro* en adipocytes stockent en outre moins de triglycérides, ce qui est corrélée avec une augmentation de la lipolyse et une diminution de la lipogénèse, et présentent des gouttelettes lipidiques plus petites. La réalisation de puces ADN sur du tissu adipeux de souris sauvages et FXR^{-/-} a permis de mettre en évidence une surexpression de plusieurs gènes de la voie Wnt/ β -caténine, décrite pour inhiber la différenciation adipocytaire (Christodoulides et al., 2009). Ainsi, plusieurs gènes de la voie Wnt/ β -caténine sont surexprimés dans des MEFs FXR^{-/-} et la diminution de l'activation de cette voie rétablit la différenciation adipocytaire dans ces cellules. L'ensemble de ces résultats montre clairement un rôle central de FXR dans la différenciation adipocytaire par interférence avec les voies PPAR γ et Wnt/ β -caténine et dans la fonction adipocytaire.

Article (cf Partie VI. Annexes):

Abdelkarim M., Caron S., Duhem C., **Prawitt J.,** Dumont J., Lucas A., Bouchaert E., Briand O., Brozek J., Kuipers F., Fievet C., Cariou B. and Staels B. (2010). The farnesoid X receptor regulates adipocyte differentiation and function by promoting peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and interfering with the Wnt/beta-catenin pathways. *J. Biol. Chem.* **285**: 36759-36767.

Conclusion/Perspectives :

Nous avons montré que FXR joue un rôle majeur dans la différenciation adipocytaire par interférence avec les voies PPAR γ et Wnt/ β -caténine. Des observations (*Données non-publiées*) nous laissent penser que FXR pourrait interférer avec la voie Wnt/ β -caténine à plusieurs niveaux, directement ou indirectement, par interférence avec le récepteur PPAR γ qui interagit lui aussi avec la voie Wnt/ β -caténine (pour revue, Farmer SR, 2005). D'autres études, à la même période et plus récemment, ont mis en évidence cette interférence entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine (cf **Partie III. III.2. 3/**). Les mécanismes moléculaires d'interférence entre ces deux voies commencent à être élucidés dans plusieurs types cellulaires (cf **Partie III. III.2. 3/**), mais ils ne sont toutefois pas encore décrits dans l'adipocyte.

Projet 2. Etude du rôle de FXR dans le développement de l'obésité induite par la nourriture ou génétiquement.

Thésards et/ou stagiaires post-doctoraux impliqués dans le projet : Janne Prawitt (Stagiaire post-doctorale, 2007-2010) ; Mouaadh Abdelkarim (Thèse, 2005-2010).

Contexte et question scientifique :

Le récepteur nucléaire FXR régule le métabolisme du glucose, des lipides et des acides biliaires (pour revue, Lefebvre P et *al.*, 2009), très fréquemment dérégulés lors du développement de désordres métaboliques, dont l'obésité abdominale. Toutefois, le rôle de FXR dans le développement de l'obésité n'avait jamais été étudié. **L'objectif de ce projet était d'étudier le rôle de FXR dans le développement de l'obésité induite génétiquement ou par la nourriture.**

Résultats obtenus :

Des souris FXR^{-/-} ont été générées dans un fond génétique déficient pour la leptine (souris FXR^{-/-} *ob/ob*), fond prédisposant à l'obésité. De façon surprenante, ces souris ont un poids total réduit, ainsi qu'une réduction de la masse grasse, par rapport aux souris *ob/ob*. La mesure de la consommation d'oxygène et de la production met en évidence une diminution nette du métabolisme énergétique, sans différence du quotient respiratoire. En outre, la tolérance systémique au glucose et la sensibilité périphérique à l'insuline sont améliorées tandis qu'aucun changement n'a lieu au niveau de la sensibilité hépatique à l'insuline. Des résultats similaires sont obtenus lorsque des souris FXR^{-/-} sont soumises à un régime riche en graisses qui induit une obésité. En outre, l'amélioration du métabolisme du glucose et la sensibilité périphérique n'est pas liée à FXR exprimé dans le foie puisque des souris déficientes spécifiquement pour FXR dans le foie ne sont pas protégées d'une obésité induite par l'alimentation, ce qui met en évidence l'importance du rôle de FXR exprimé dans les tissus périphériques. Toutefois, les souris FXR^{-/-} *ob/ob* présentent une augmentation importante des taux plasmatiques de triglycérides et d'acides gras libres. L'ensemble de ces résultats montre que la déficience pour FXR dans un contexte d'obésité améliore le phénotype glucidique, mais pas lipidique. En outre, ces résultats mettent en évidence l'importance de l'expression de FXR dans les tissus périphériques.

Article (cf Partie VI. Annexes):

Prawitt J., Abdelkarim M., Stroeve J.H.M., Ristea Popescu I., Duez H., Velagapudi V.R., Dumont J., Bouchaert E., van Dijk T.H., Lucas A., Dorchies E., Daoudi M., Lestavel S., Gonzalez F.J., Oresic M., Cariou B., Kuipers F., **Caron S.,** Staels B. (2011) Farnesoid X receptor deficiency improves glucose homeostasis in mouse models of obesity. *Diabetes*. **60**: 1861-1871. (IF 8,398)

Conclusion/Perspectives :

Les résultats obtenus lors du phénotypage des souris FXR^{-/-} *ob/ob* montrent l'importance de l'expression et du rôle de FXR dans les tissus périphériques pour la régulation systémique du métabolisme énergétique. Ces résultats, sans pour autant diminuer le rôle hépatique de FXR,

confirment l'intérêt d'étudier le rôle de FXR dans les tissus périphériques qui expriment FXR, dont le tissu adipeux, le pancréas et l'intestin, sans oublier le système nerveux central.

Projet 3. Sélection de modèles hépatiques humains pour l'étude de la régulation du métabolisme du glucose au niveau du foie.

Thésards et/ou stagiaires post-doctoraux impliqués dans le projet : Carolina Huaman Samanez (Master 2, 2007-2008 ; Thèse, 2008-2012).

Contexte et question scientifique :

Les mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation du métabolisme du glucose au niveau du foie sont classiquement étudiés *in vitro* dans des hépatocytes primaires de souris et de rat et éventuellement dans des hépatocytes primaires humains. Toutefois, le nombre de cellules primaires étant toujours limité, les études s'en trouvent réduites, ce qui se rajoute au problème de la reproductibilité, notamment pour les cellules humaines qui proviennent de différents donneurs. Une des alternatives est l'utilisation de lignées cellulaires. Bien que de nombreuses études portant sur l'étude du métabolisme glucidique soient menées dans les modèles hépatocytaires humains existants (dont les cellules d'hépatome humain HepG2), nous avons observé que la régulation des voies induites par le glucose pouvait dépendre des clones et n'est pas toujours reproductible (*Observations personnelles*). **Notre objectif était d'identifier des modèles hépatocytaires humains présentant une réponse reproductible à un stimulus par le glucose.**

Résultats obtenus :

Nous avons testé la réponse au glucose et la reproductibilité de cette réponse dans deux modèles d'hépatocytes humains : la lignée IHH (Immortalized Human Hepatocytes) d'hépatocytes humains immortalisés (Schippers et *al.*, 1997) et la lignée HepaRG issue d'un hépatome humain (Gripon et *al.*, 2002). Nous avons montré que ces deux lignées expriment de nombreux gènes des voies de régulation du métabolisme du glucose, mais aussi du métabolisme des lipides et du cholestérol. Ces cellules, après une incubation dans un milieu pauvre en glucose ou insuline, sont capables de réactiver les voies d'utilisation respectivement du glucose et de l'insuline. En outre, les cellules IHH, même si elles n'expriment pas/peu le récepteur au glucagon, peuvent activer les voies de la néoglucogénèse lorsque la voie normalement activée par le glucagon l'est par la forskoline. De même, ces cellules sont capables de sécréter des triglycérides et de l'apolipoprotéine B, fort probablement sous forme de VLDL ou VLDL-like (*Résultats non-publiés*). Enfin, ces deux types cellulaires expriment plusieurs récepteurs nucléaires fonctionnels et de ce fait constituent des modèles intéressants pour l'étude de la régulation des voies métaboliques par ces récepteurs nucléaires. L'ensemble de ces résultats montre que ces deux lignées d'hépatocytes humains présentent une réponse reproductible à des stimuli glucose et insuline.

Article (cf Partie VI. Annexes):

Samanez C Huaman*, **Caron S***, Briand O, Dehondt H, Duplan I, Kuipers F, N Hennuyer, Clavey V, Staels B. (2012) The human hepatocyte cell lines IHH and HepaRG : models to study glucose, lipid and lipoprotein metabolism. *Arch Physiol Biochem.* **118**: 102-111. (* : co-1^{ers} auteurs)

Conclusion/Perspectives :

Grâce à cette étude, nous disposons de deux lignées cellulaires d'hépatocytes humains présentant une réponse reproductible à un stimulus glucose et insuline et de ce fait, permettant l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans le métabolisme hépatique glucidique. En outre, ces deux lignées expriment de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme lipidique et du cholestérol et sécrètent, au moins pour les IHH, des lipoprotéines, ce qui permet d'envisager des études de ce métabolisme.

Projet 4. Identification des mécanismes moléculaires d'action de FXR sur la voie de la glycolyse/lipogenèse dans le foie - Interférence de FXR avec la voie ChREBP.

Thésards et/ou stagiaires post-doctoraux impliqués dans le projet : Carolina Huaman Samanez (Master 2, 2007-2008 ; Thèse, 2008-2012).

Contexte et question scientifique :

Notre laboratoire a montré, qu'après une période de jeûne, le métabolisme du glucose est accéléré chez les souris FXR^{-/-}, par rapport aux souris sauvages, lors d'une réalimentation riche en glucose (Duran-Sandoval et al., 2005a). Ce métabolisme accéléré se caractérise par une induction plus rapide dans le temps de l'expression des gènes codant pour des enzymes de la glycolyse (catabolisme du glucose) (LPK (Liver pyruvate kinase)) et de la lipogenèse (biosynthèse d'acides gras) (FAS (fatty acid synthase), ACC-1 (acetyl-coenzyme A carboxylase 1)). Ces expériences suggéraient que FXR inhibe l'expression de gènes induits par le glucose probablement en interférant avec le/les facteur(s) se liant aux éléments de réponse au glucose ou ChoRE (Carbohydrate Response Element) présents dans les promoteurs des gènes de la glycolyse et de la lipogénèse. Il est connu depuis 2001 que le facteur de transcription se fixant sur les ChoRE (encore appelés E-Box) est le facteur ChREBP (Carbohydrate Response Element Binding Protein) (Yamashita et al., 2001 ; pour revue, Baraille F et al., 2015). **Notre objectif était d'identifier les mécanismes moléculaires d'interférence de FXR avec la voie ChREBP, en prenant comme exemple le gène de la LPK.**

Résultats obtenus :

Ce projet a principalement été mené dans le modèle humain IHH et en partie dans le modèle HepaRG, du fait de la sensibilité de ces deux modèles au glucose (*cf* **Projet 3**). Nous avons montré que l'inhibition par FXR, initialement observée chez la souris, de l'expression de gènes (dont la LPK) induits par le glucose est conservée dans les cellules humaines IHH et HepaRG (*Résultats non-publiés pour le 2nd modèle*).

Dans le modèle IHH, nous avons montré, par des expériences de transfections transitoires, que c'est la région « L4L3 » du promoteur de la LPK, décrite pour contenir un ChORE et un site pour le récepteur nucléaire HNF4 α et pour intervenir dans l'induction de ce gène par le glucose (pour revue, Yamada K and Noguchi T, 1999), qui est impliquée dans l'induction de ce gène par le glucose, mais aussi dans l'inhibition par FXR. Ainsi, l'utilisation d'ARN interférants spécifiques de ChREBP ou de HNF4 α montre une diminution nette de l'induction de la LPK par le glucose dans les cellules IHH

(Caron et al., 2011). Nous avons montré que FXR et CHREBP interagissaient directement physiquement et étaient retrouvés dans le même complexe protéique dans des IHH traitées par des fortes doses de glucose. Cette interaction n'altère pas la translocation nucléaire de ChREBP. Une série d'expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) dans les cellules IHH nous ont permis d'analyser la composition du complexe protéique fixé sur la région « L4L3 » du promoteur de la LPK suivant les conditions. L'ensemble de nos résultats nous permet de proposer un modèle (**Figure 5**) dans lequel FXR activé inhiberait la fixation de ChREBP sur la région « L4L3 », et de ce fait l'induction de l'expression de la LPK par le glucose, tout en restant présent sur le promoteur via une interaction, directe ou pas, avec HNF4 α qui lui reste fixé sur le promoteur. L'ensemble de ces résultats, en plus de présenter un modèle original d'interférence des voies FXR et ChREBP, montrait pour la première fois l'existence d'une transrépression par le récepteur nucléaire FXR.

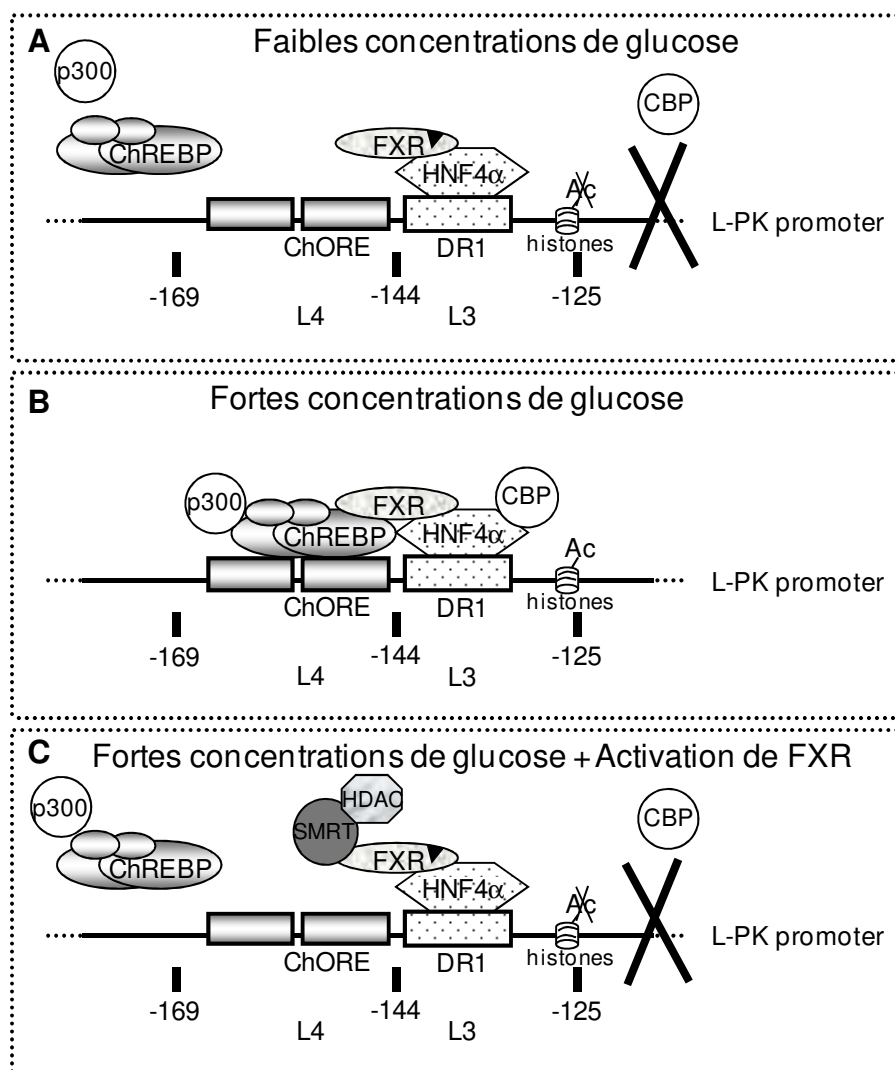


Figure 5. Modèle de trans-répression du gène de la L-PK par le récepteur nucléaire FXR. En présence d'une faible concentration de glucose (A), le facteur HNF4 α est fixé sur son site dans la région L4L3 du promoteur du gène L-PK et FXR est présent au niveau du promoteur probablement grâce à son interaction avec HNF4 α . La transcription du gène L-PK est à un niveau basal. En présence d'une forte concentration de glucose et sans activation du récepteur FXR (B), les facteurs de transcription ChREBP et HNF4 α sont fixés sur leurs sites respectifs dans la région L4L3 du promoteur du gène L-PK et transactivent son expression, notamment en recrutant les co-activateurs transcriptionnels p300 et CBP. FXR est présent dans le complexe

protéique, probablement grâce à son interaction physique avec les facteurs ChREBP et HNF4 α et intervient dans cette activation par le glucose (*Données non-publiées*). En présence d'une forte concentration de glucose et activation du récepteur FXR (C), le facteur ChREBP, ainsi que les co-activateurs p300 et CBP se détachent du promoteur *L-PK*. Les facteurs FXR and HNF4 α sont en revanche toujours fixés sur le promoteur. FXR recrute le co-inhibiteur transcriptionnel SMRT et réprime ainsi la transcription du gène *L-PK* par le recrutement de histone désacétylases (HDAC) et la déacétylation des histones H3. Complété d'après Caron S et al., 2013.

Article (cf Partie VI. Annexes):

Caron S*, Huaman Samanez C*, Dehondt H, Lien F, Ploton M, Briand O, Dumont J, Lefebvre P, Staels B. (2013) The Farnesoid X Receptor regulates the transcriptional activity of the Carbohydrate Response Element Binding Protein. *Mol. Cell. Biol.* **33**: 2202-2211. (* : co-first auteurs)

Spotlight écrit sur cet article : (2013) *Mol. Cell. Biol.* **33**.

Conclusion/Perspectives :

Nous avons réalisé des puces dans des cellules IHH incubées avec une faible et une forte concentration de glucose et sans et activation de FXR (Caron S et al., 2013). Des analyses complémentaires des résultats de ces puces permettraient peut-être d'identifier d'autres gènes dont l'expression est co-régulée par le glucose et FXR, ce qui pourrait permettre de mettre à jour d'autres gènes et voies impliquées dans l'homéostasie glucidique ou d'autres métabolismes/événements cellulaires régulés par FXR.

2.2. Etude de la régulation de l'expression hépatique de l'apolipoprotéine (apo) CIII par le glucose

Financement

Ce projet a été en partie financé par le contrat Européen HEPADIP (2005-2010).

Thésards et/ou stagiaires post-doctoraux impliqués dans le projet : Carolina Huaman Samanez (Thèse, 2008-2012), Janne Prawitt (Stagiaire post-doctorale, 2007-2010).

L'apolipoprotéine (apo) CIII – Etat des lieux en 2004-2006 – Question scientifique

L'apolipoprotéine (apo) CIII, l'apolipoprotéine la plus abondante dans le plasma, est principalement synthétisée par le foie et l'intestin (Zannis VI et al., 1985). L'apoCIII est un composant majeur des lipoprotéines riches en triglycérides, dont les VLDL et des HDL (Mendivil CO et al., 2010). L'apoCIII a un rôle majeur dans le contrôle du métabolisme des triglycérides chez l'homme et la souris (Ginsberg HN et al., 1986 ; Maeda N, 1994). Ainsi, il a été montré *in vitro* que l'apoCIII inhibe la lipoprotéine lipase (LPL) et de ce fait, retarde le catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides (Wang CS et al., 1985 ; Jong MC et al., 2001). Des souris transgéniques pour l'apoCIII développent une hypertriglycéridémie (Ito Y et al., 1990) et chez l'homme, une corrélation positive est observée entre les taux plasmatiques de protéines apoCIII et les taux plasmatiques de triglycérides (Schonfeld G et al., 1979 ; Stocks J et al., 1979 ; Le NA et al., 1988 ; Batal R et al., 2000). Il était connu que l'expression hépatique de l'apoCIII est très régulée au niveau transcriptionnel. Toutefois, malgré quelques liens indirects, aucun lien n'avait été établi entre l'expression de l'apoCIII et le métabolisme

hépatique du glucose. **Notre objectif était de déterminer si l'expression de l'apoCIII est régulée par le glucose au niveau hépatique.**

Données préliminaires

Des premiers résultats obtenus par Gisèle Mautino en stage post-doctoral dans le laboratoire avaient montré que le glucose induisait l'expression génique de l'apoCIII dans des hépatocytes primaires de rat. Cette régulation n'avait pu être retrouvée dans des hépatocytes primaires humains. Le projet avait été momentanément arrêté jusqu'à trouver un modèle d'hépatocyte humain répondant au glucose (*cf partie III.2. – 2/- 2.1 – Projet 3*).

Résultats obtenus :

Nous avons montré que, comme dans les hépatocytes de rat, l'expression de l'apoCIII dans les cellules IHH est induite par le glucose à un niveau transcriptionnel et de façon dépendante de la dose de glucose et en fonction du temps. Cette régulation est dépendante d'une région du promoteur décrite dans les années 90 (Lavrentiadou SN et *al.*, 1999) et possédant un site de fixation ChORE pour le facteur de transcription ChREBP et un autre pour le récepteur nucléaire HNF4 α . Nous avons montré que les deux facteurs de transcription ChREBP et HNF4 α sont nécessaires à l'induction de l'expression du gène de l'apoCIII par le glucose. En outre, l'induction de l'apoCIII par le glucose est fortement inhibée après l'activation des récepteurs nucléaires FXR et PPAR α , mais pas LXRs. Enfin, nous avons montré l'existence d'une corrélation positive significative entre le taux de protéines apoCIII plasmatiques et le taux de glucose plasmatique à jeûn, d'une part, et, avec l'évolution du taux de glucose plasmatique après une prise de glucose, d'autre part, chez des patients en surpoids. L'ensemble des ces résultats a permis de montrer que l'expression de l'apoCIII est induite à un niveau transcriptionnel à la fois dans des cellules hépatiques murines et humaines et corrèle positivement avec le taux plasmatique de glucose chez l'homme.

Article (cf Partie VI. Annexes):

Caron S., Verrijken A., Mertens I., **Huaman Samanez C.**, Mautino G, Haas J.T., Duran-Sandoval D., **Prawitt J.**, Francque S., Vallez E., Muhr-Tailleux A., Berard I., Kuipers F, Kuivenhoven J.A., Biddinger S.B., Taskinen M.R., Van Gaal L. and Staels B. (2011) Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **31**:513-519.

Editorial écrit sur l'article : Ginsberg HN and Brown WV. (2011) Apolipoprotein CIII : 42 years old and even more interesting. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **31**:471-473.

3/ Projets en cours et futurs

A la suite des projets finis, nous avons continué à nous intéresser au rôle du récepteur FXR dans le tissu adipeux (**Partie 3.1.**) et dans le foie (**Partie 3.2.**). *Ces projets ont fait l'objet d'un encadrement d'un étudiant Master 2 et de l'encadrement d'un chercheur post-doctoral et font l'objet du co-encadrement de thèse.*

Dans la mesure où le 1^{er} projet portant sur le rôle de FXR dans le tissu adipeux est déjà bien entamé, j'ai fait le choix de peu le détailler et de me concentrer sur le 2^{ème} projet portant sur le rôle de FXR dans le foie.

3.1. Etude du rôle de FXR dans la fonction de l'adipocyte

Gestion du projet

Thésards et/ou stagiaires post-doctoraux impliqués dans le projet : Arianna Marino (Chercheuse post-doctorale 2014-2017)

Financements : ANR FXRen (2012-2014) ; EFSD (octobre 2015-janvier 2017).

Collaborations : Denis Mogilenko, David Dombrowicz (Equipe 3, Unité 1011)

Contexte scientifique

L'inflammation dans le tissu adipeux blanc

L'obésité est une maladie métabolique et inflammatoire

L'obésité se caractérise par une augmentation importante de la masse du tissu adipeux blanc. Cette expansion est liée à un apport alimentaire excédentaire qui, dans un premier temps, entraîne une augmentation de la taille des adipocytes ou hypertrophie (**Figure 7**). Dans une deuxième étape, les adipocytes ayant atteint une taille maximale, c'est le nombre d'adipocytes qui va augmenter par un phénomène d'hyperplasie (pour revues, Rutkowski JM et *al.*, 2015 ; Choe SS et *al.*, 2016). L'hyperplasie entraîne une augmentation du nombre d'adipocytes fonctionnels, donc qui assurent le stockage des acides gras sous forme de triglycérides et permettent une augmentation de la sécrétion de l'adipokine adiponectine qui améliore la sensibilité à l'insuline (pour revue, Choe SS et *al.*, 2016). En revanche, l'hypertrophie des adipocytes conduit à leur dysfonctionnement, particulièrement avec un relarguage important des acides gras, une production diminuée d'adiponectine, entraînant une diminution de la sensibilité à l'insuline, le développement de phénomènes d'hypoxie et une production accrue de matrice extracellulaire entraînant le développement d'une fibrose (pour revue, Choe SS et *al.*, 2016). L'hypoxie finit par conduire à une nécrose des adipocytes hypertrophiques entraînant le recrutement de cellules immunitaires et le développement d'une inflammation locale du tissu.

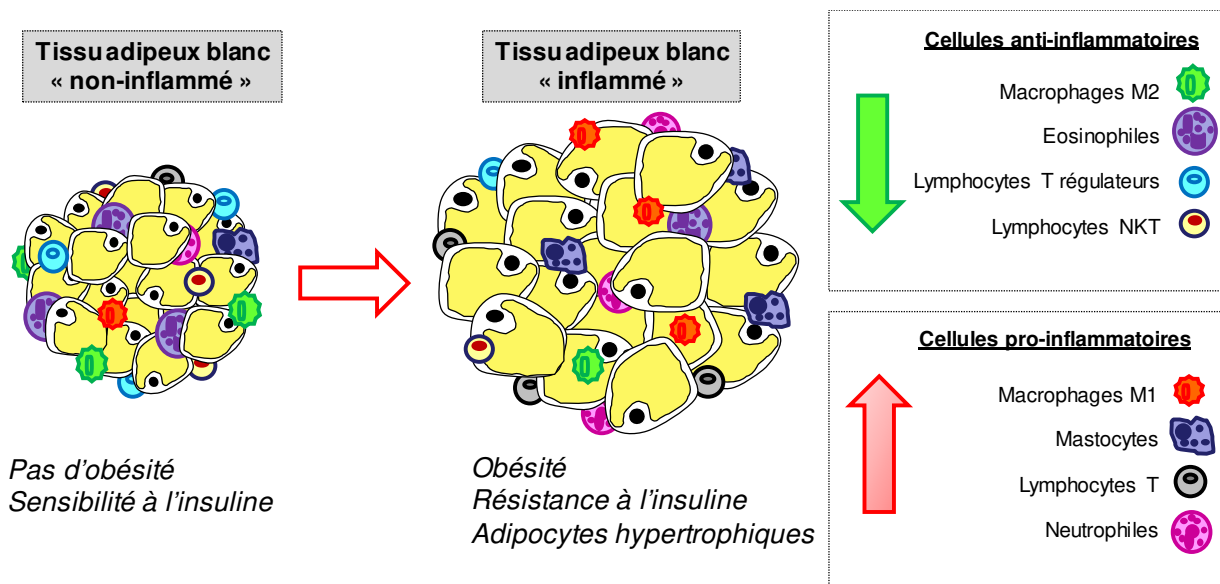


Figure 7. Les cellules immunitaires et les adipocytes contribuent au développement de l'inflammation dans le tissu adipeux. L'obésité est une maladie inflammatoire à bas bruit. L'inflammation est particulièrement marquée dans le tissu adipeux blanc. Elle fait suite à une hypertrophie des adipocytes qui entrent en nécrose et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires entraînant le recrutement de cellules immunitaires. Parmi ces cellules, le recrutement des macrophages M1 est le mieux caractérisé, mais le nombre d'autres cellules, dont les mastocytes, les lymphocytes T et les neutrophiles, est aussi augmenté. En parallèle, le nombre de cellules anti-inflammatoires diminue dans le tissu adipeux, dont particulièrement les macrophages M2, les éosinophiles et les lymphocytes T régulateurs et natural killer (NKT). L'inflammation est auto-entretenu par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires à la fois par les adipocytes et les cellules immunitaires. Adapté d'après Rosen ED & Spiegelman BM, 2014.

Rôles des cellules immunitaires et des adipocytes dans le développement de l'inflammation du tissu adipeux

Les cellules immunitaires recrutées dans un tissu adipeux blanc inflammé sont multiples (Pour revue, Bastard JP & Fève B, 2013 (Chapitre 20)) (**Figure 7**). Ainsi, le nombre de cellules pro-inflammatoires, particulièrement les macrophages de type M1, les mastocytes, les lymphocytes T et les neutrophiles, est augmenté, tandis que celui des cellules anti-inflammatoires, particulièrement les macrophages de type M2, les éosinophiles et les lymphocytes T régulateurs et natural killer, diminue. Le recrutement des macrophages pro-inflammatoires M1 est le mieux caractérisé.

La présence de macrophages M1 dans le tissu adipeux inflammé est lié, à la fois, à un recrutement de macrophages péritonéaux qui acquièrent un phénotype M1, mais aussi à l'acquisition par les macrophages résidents de type M2 d'un phénotype pro-inflammatoire M1 (Pour revue, Wensveen FM *et al.*, 2015). Cette infiltration par des macrophages est précédée par un recrutement de lymphocytes. Ces cellules immunes sécrètent des cytokines pro-inflammatoires qui favorisent le recrutement d'autres cellules immunes et donc entretiennent l'inflammation du tissu.

Des données plus récentes montrent que les adipocytes eux-mêmes, particulièrement quand ils sont hypertrophiques par modification de leur profil sécrétoire, sécrètent des cytokines pro-inflammatoires qui soutiennent l'infiltration des cellules immunes et le développement de l'inflammation (Pour revue, Huh JY *et al.*, 2014).

Les origines et l'entretien de l'inflammation du tissu adipeux blanc dans un contexte d'obésité

Bien que tous les acteurs et signaux inducteurs ne sont probablement pas identifiés, l'origine de l'inflammation dans le tissu adipeux blanc semble principalement lié à l'hypertrophie des adipocytes qui sécrètent alors des molécules pro-inflammatoires soutenant le recrutement de cellules immunes accentuant l'inflammation (pour revue, Bastard JP & Fève B, 2013 (Chapitre 20)). Particulièrement, les macrophages recrutés sont classiquement retrouvés, formant une structure particulière en forme de croix, autour des adipocytes hypertrophiques qui présentent des signes de mort cellulaire. Outre les cytokines pro-inflammatoires, la forte lipolyse dans ces adipocytes pro-inflammatoires entraînent la libération d'acides gras libres qui activent le récepteur TLR4 (toll like receptor 4) et ainsi l'activation de la voie inflammatoire NFκB (Shi H et al., 2006) dans les macrophages. L'hypoxie, ainsi que le stress oxydatif et le stress du réticulum endoplasmique, contribueraient à l'entretien de l'état inflammatoire du tissu adipeux.

Les conséquences locales et systémiques de l'inflammation du tissu adipeux

L'obésité est actuellement considérée comme une maladie inflammatoire modérée chronique. Les patients obèses présentent ainsi des taux circulants plus élevés de cytokines pro-inflammatoires, de molécules d'adhésion et de protéines de la phase aigüe (pour revue, Bastard JP & Fève B, 2013 (Chapitre 20)). Bien que d'autres organes que le tissu adipeux, tels que le foie, les cellules inflammatoires circulantes, y participent, c'est principalement le tissu adipeux blanc qui semble contribuer à cet état global d'inflammation.

Le statut inflammatoire du tissu adipeux impacte la biologie des adipocytes (pour revue, Bastard JP & Fève B, 2013 (Chapitre 21)). Le principal effet est le développement d'une résistance à l'insuline, par interférence des voies activées par cette hormone les acides gras libres et les cytokines pro-inflammatoires avec la signalisation induite par l'insuline (Suganami T et al., 2005). Cette résistance à l'insuline contribue à l'augmentation de la lipolyse dans les adipocytes et ainsi au statut pro-inflammatoire, mais aussi favorise l'acquisition d'un phénotype pro-inflammatoire M1 par les macrophages. Certaines études mettent en évidence dans ce contexte une diminution de la différenciation des pré-adipocytes qui conservent leur potentiel de prolifération (Lacasa D et al., 2007 ; Bourlier V et al., 2008), ainsi qu'une augmentation de la néovascularisation (Bourlier et al., 2008). Enfin, les macrophages pro-inflammatoires M1 présenteraient un potentiel pro-fibrotique (Keophiphath M et al., 2009), favorisant le développement de la matrice extracellulaire et contribuant à interférer avec le remodelage du tissu adipeux et ainsi avec l'adaptation aux changements métaboliques (Divoux A et al., 2010).

L'expansion du tissu adipeux a un impact sur le métabolisme systémique des adipocytes, mais l'inflammation du tissu adipeux en tant que telle impacte aussi l'organisme dans sa globalité. Toutefois, aucun lien direct n'a pu être établi. Chez la souris, l'abondance des macrophages dans le tissu adipeux contribue à l'induction de la résistance à l'insuline systémique (Pour revue, Huh JY et al., 2014). Chez l'homme, cette association est retrouvée, ou pas, suivant les études (pour revue, Bastard JP & Fève B, 2013 (Chapitre 21)). La résistance à l'insuline peut même être induite sans modification du nombre de macrophages dans le tissu adipeux. Aucun lien avec l'augmentation du risque cardiovasculaire n'a pu être mis en évidence. En revanche, une corrélation positive est mise en

évidence entre l'accumulation de macrophages dans le tissu adipeux et le développement de la fibrose et de la stéatose hépatique (Tordjman J et *al.*, 2009).

Le récepteur FXR et ses rôles dans le tissu adipeux et l'adipocyte blancs et le développement de l'obésité

FXR régule la différenciation et la fonction de l'adipocyte blanc

Comme nous l'avons vu (Partie III. III.2. 2/), le récepteur nucléaire FXR, certes moins exprimé dans le tissu adipeux que dans le foie, est nécessaire pour une différenciation adipocytaire complète (Cariou B et *al.*, 2006 ; Abdelkarim M et *al.*, 2010) et pour la fonction adipocytaire (Cariou B et *al.*, 2006; Rizzo G et *al.*, 2006 ; Abdelkarim M et *al.*, 2010). Ainsi, l'expression de FXR, certes faible dans le tissu adipeux blanc, est induite au cours de la différenciation adipocytaire dans différents modèles cellulaires adipocytaires (Cariou B et *al.*, 2006 ; Rizzo G et *al.*, 2006). Les souris FXR^{-/-} présentent en outre une masse de tissu adipeux plus basse que les souris sauvages (Cariou B et *al.*, 2006). La déficience en FXR dans des pré-adipocytes ou des fibroblastes embryonnaires de souris altèrent leur différenciation *in vitro* en adipocyte, comme l'atteste la moindre induction des gènes de la différenciation adipocytaire et la formation de petites gouttelettes multiples au lieu de la grosse gouttelette lipidique (Cariou B et *al.*, 2006 ; Abdelkarim M et *al.*, 2010). A l'inverse, le traitement de cellules 3T3-L1 par l'acide obéticholique (INT-747), l'agoniste de FXR, augmente leur différenciation en adipocyte (Rizzo G et *al.*, 2006). En outre, la déficience en FXR confère une fonction adipocytaire altérée, comme le montrent l'augmentation de la lipolyse et la diminution de la lipogénèse (Abdelkarim M et *al.*, 2010), en adéquation avec la taille réduite des gouttelettes lipidiques (Cariou B et *al.*, 2006). Cette implication laissait présager que FXR dans l'adipocyte blanc puisse jouer un rôle dans le développement de l'obésité.

FXR, les pools d'acides biliaires et le développement de l'obésité

Les souris FXR^{-/-} sont résistantes au développement de l'obésité induite par l'alimentation ou génétiquement, comme le montre respectivement la résistance des souris FXR^{-/-} soumis à un régime riche en graisses à la prise de poids et les souris FXR^{-/-} sur un fond génétique *ob/ob* (déficience à la leptine) prédisposant à l'obésité (Prawitt J et *al.*, 2011). Cette résistance à la prise de poids ne dépend pas du récepteur FXR exprimé dans le foie puisque des souris FXR^{-/-} spécifiquement dans cet organe restent résistantes (Prawitt J et *al.*, 2011), suggérant l'implication de FXR exprimé dans les tissus périphériques, dont dans le tissu adipeux, dans le développement de l'obésité.

En outre, une modification du pool des acides biliaires, tant au niveau qualitatif que quantitatif, est décrit dans les maladies métaboliques, notamment dans des contextes d'obésité (Prawitt J et *al.*, 2014). Des études récentes mettent en évidence une corrélation entre le changement du pool des acides biliaires, l'activité de FXR et le statut métabolique. Ainsi, des études cliniques, ainsi que des études menées chez la souris, montrent qu'après chirurgie bariatrique, la modification du pool des acides biliaires entraîne, via la modulation du récepteur FXR, certes une perte de poids, mais de façon plus précoce, une amélioration du métabolisme glucidique et de l'inflammation (Ryan KK et *al.*, 2014 ; Kaska L et *al.*, 2016 ; pour revue, Noel OF et *al.*, 2016). Une autre étude met en évidence que l'administration d'un séquestrant des acides biliaires, le sevalamer, entraîne une diminution de l'inflammation et de l'activation des cellules immunitaires dans le foie dans un modèle de maladie du foie gras (NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease) (McGettigan BM et *al.*, 2016). Ce séquestrant

agit en réduisant la signalisation induite par FXR dans le foie et l'intestin. Ces résultats établissent clairement un lien entre FXR et l'inflammation dans un contexte de maladies métaboliques.

Plusieurs études établissent un lien entre le récepteur FXR et le développement de l'inflammation dans différents organes métaboliques et mettent en évidence un rôle direct anti-inflammatoire de ce récepteur. Les études les plus marquantes ont été menées dans le foie et l'intestin.

FXR et l'inflammation dans le foie

Un certain nombre d'études dans le foie mettent en évidence un rôle anti-inflammatoire de FXR après son activation et ceci, par plusieurs de ses ligands.

Ainsi, dans des modèles murins d'inflammation du foie après l'injection de lipopolysaccharide (LPS), l'activation de FXR par différents agonistes, dont l'acide chénodeoxycholique (CDCA), un agoniste naturel, et le GW4064, un agoniste synthétique, entraîne une diminution de l'inflammation dans le foie (Xu Z et al., 2012 ; Yao J et al., 2014). Cette diminution de l'inflammation s'accompagne d'une moindre expression des cytokines pro-inflammatoires avec réduction de l'activation des macrophages.

Une diminution de l'inflammation dans le foie de rongeurs souffrant d'une stéatose hépatique non-alcoolique (NASH) est aussi observée après l'activation de FXR par le WAY-362450, diminution corrélée avec une réduction de l'infiltration des cellules pro-inflammatoires et une réduction de la fibrose (Zhang S et al., 2009). L'activation de FXR par l'acide obéticholique (OCA) entraîne aussi une diminution de l'inflammation dans un modèle de lapin atteint d'un syndrome métabolique, avec une diminution du développement de la stéatose hépatique (Maneschi E et al., 2013), ainsi que dans un modèle de rat intoxiqués chimiquement (Verbeke L et al., 2016). Dans ce dernier modèle, l'effet anti-inflammatoire impliquerait une inhibition de la voie NF- κ B et une inactivation des cellules stellate impliquées dans le développement de la fibrose.

En parallèle, des études *in vitro* mettent en évidence une augmentation de l'expression du gène SOCS3 (Suppressor of cytokine signaling 3) après l'activation de FXR, ce qui entraîne une inhibition de l'activation de STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) (Xu Z et al., 2012). Il a été montré que le gène SOCS3 est un gène cible direct de FXR. Ces résultats corrélerent avec une étude mettant en évidence une forte sur-activation de la voie STAT3 par non-activation de SOCS3 par FXR (Li G et al., 2013) dans des foies de souris FXR^{-/-} dans un contexte d'inflammation, suggérant un rôle anti-inflammatoire de ce récepteur.

En outre, l'augmentation de l'expression de CYP7A1 et de la synthèse des acides biliaires entraînent une inhibition de l'inflammation dans le foie d'une manière dépendante de l'activation de FXR (Liu H et al., 2016). Une autre étude met en évidence que l'inactivation de SHP (small heterodimer partner), un gène cible direct de FXR, entraîne un phénotype pro-inflammatoire (Myronovych A et al., 2014), suggérant aussi un rôle anti-inflammatoire de FXR.

FXR et l'inflammation dans l'intestin

D'autres études mettent en évidence un rôle de FXR dans le contrôle de l'inflammation dans l'intestin. L'activation de FXR entraîne une réduction de l'inflammation dans l'intestin, notamment par répression de la voie NF- κ B (Gadaleta RM et al., 2011a). Ces études menées *in vivo* et *in vitro* mettent aussi en évidence un rétro-contrôle négatif de l'inflammation sur l'activation de FXR.

L'activation de FXR par différents ligands entraîne une diminution de l'inflammation dans l'intestin dans différents types de maladies intestinales inflammatoires, dont les colites chez la souris (Vavassori P et *al.*, 2009 ; Gadaleta RM et *al.*, 2011b) et la maladie de Crohn chez l'homme (Nijmeijer RM et *al.*, 2011). Chez des patients souffrant d'une colite ulcéreuse, une corrélation inverse entre l'expression de FXR et la sévérité de l'inflammation a été rapportée (Torres J et *al.*, 2013). L'inflammation intestinale est diminuée après l'activation de FXR dans des modèle de cholestase chez la souris (Verbeke L et *al.*, 2015). Enfin, la déficience en FXR chez la souris entraîne le développement de l'inflammation dans l'intestin (Maran RR et *al.*, 2009).

FXR et l'inflammation dans le tissu adipeux blanc

Moins d'études établissent un lien entre le récepteur FXR et le développement de l'inflammation dans l'adipocyte et le tissu adipeux blanc. Une seule établit un lien direct entre FXR et l'inflammation dans le tissu adipeux blanc (Shihabudeen MS et *al.*, 2015). Les auteurs mettent en évidence un rôle anti-inflammatoire de FXR dans des modèles *in vitro* d'adipocyte et dans le tissu adipeux blanc de souris, marqué par une diminution des adipokines pro-inflammatoires et une augmentation des adipokines anti-inflammatoires. En outre, l'activation de FXR entraîne une diminution de l'activité de la voie NF- κ B. Cette diminution de l'inflammation corrèle avec une amélioration de la sensibilité à l'insuline.

Le rôle de FXR dans le contrôle de l'inflammation au niveau du tissu adipeux blanc restait largement méconnu et notamment en lien avec le contrôle du métabolisme dans cet organe et dans l'ensemble de l'organisme.

FXR favorise-t-il le développement de l'inflammation dans le tissu adipeux blanc? - Résultats préliminaires

Des souris FXR^{-/-} placées sous un régime riche en graisses (60% de graisses) montraient une inflammation plus faible dans le tissu adipeux blanc épидидymal par rapport aux souris sauvages (Mogilenko D, Prawitt J, *Données non-publiées*, 2013). Ce résultat suggérait qu'un contexte de déficience en FXR pouvait protéger contre l'inflammation développée dans un contexte d'obésité.

La question scientifique

L'objectif de ce projet est d'étudier **l'impact d'une déficience de FXR spécifiquement dans l'adipocyte sur l'inflammation induite dans le tissu adipeux par un contexte d'obésité, ainsi que sur le métabolisme de l'ensemble de l'organisme**. Ce projet a été initié dans le modèle de souris totalement déficiente pour FXR (FXR-KO) (Sinal CJ et *al.*, 2000) et poursuivi dans un nouveau modèle murin de déficience pour FXR spécifiquement dans l'adipocyte, les souris Adipocyte-FXR^{-/-} (Ad-FXR-KO), que nous avons créé.

Les résultats obtenus

Les résultats obtenus quant à la description du phénotype inflammatoire du tissu adipeux blanc des souris FXR-KO et Ad-FXR-KO placées sous un régime gras sont présentés dans les Figures 8-11. Ces figures sont pour l'instant intégrées dans une publication en cours de préparation et donc non-finalisées (Marino A et al., En préparation). La finalisation de ce papier est en cours de discussion (Cf partie suivante ('Perspectives/Discussion/Conclusion')).

Publication en préparation – Marino A et al.

(Bibliographie non-incluse dans la bibliographie du manuscrit HDR)

FXR^{-/-} mice are protected from high fat diet (HFD)-induced adipose tissue infiltration and M1 polarization of macrophages.

As reported previously (Prawitt et al 2011), whole body FXR^{-/-} mice on HFD are protected from obesity and hyperglycemia, display improved glucose tolerance (*Data not shown*) (Prawitt et al 2011) and decreased adiposity (*Data not shown*). To determine whether FXR controls adipose tissue cellularity and function, epididymal adipose tissue (e-WAT) from FXR^{+/+} (wild type (WT)) and FXR^{-/-} mice on low fat (LFD) or high fat diet (HFD) were characterized by cytofluorimetric and gene expression analysis. No differences were observed between the two genotypes on LFD. As expected, HFD feeding induced the accumulation of macrophages in e-WAT, but with significant lower extent in FXR^{-/-} compared to FXR^{+/+} mice. Indeed, both the number per gram of e-WAT (**Fig8A, left**) and the percentage of macrophages in stromal vascular fraction (SVF) (**Fig8A, right**) were decreased in e-WAT from FXR^{-/-} compared to FXR^{+/+} on HFD. Moreover, a significant decrease of M1 (CD11c⁺ cells) (**Fig8B, left**) and a significant increase of M2 (CD206⁺ CD11c⁻ cells) (**Fig8B, middle**) macrophage number, as well as a decrease of the ratio M1/M2 (CD11c⁺/CD206⁺ CD11c⁻ cells) (**Fig8B, right**), were observed, showing that HFD drives M1 polarization of e-WAT macrophages in FXR^{+/+} but not in FXR^{-/-} mice. Consistently, gene expression of the macrophage marker *adgre1* (F4/80) and the M1 macrophage marker *Itgax* (CD11c) were lower, whereas gene expression of the M2 macrophage marker *Mrc1* (CD206) was higher in e-WAT of FXR^{-/-} mice compared to FXR^{+/+} mice on HFD (**Fig8C**). Since we found no difference in LFD treated mice, for further analysis we focused on adipose tissue of HFD feeding mice. Compared to e-WAT from WT mice, e-WAT from FXR^{-/-} mice on HFD showed a significant decreased expression of TNF α and IL6 (**Fig1D**). No difference of IL1 β expression was observed. These results show that FXR deficiency prevents HFD-induced adipose tissue inflammation by inhibiting recruitment and M1 polarization of macrophages and reducing pro-inflammatory cytokines expression.

Inflammatory gene expression is reduced in mature adipocytes and adipose tissue macrophages of FXR^{-/-} mice on HFD.

To identify cellular mechanisms of reduced inflammation in FXR^{-/-} mice, mature adipocytes and adipose tissue macrophages (ATM) were isolated from FXR^{+/+} and FXR^{-/-} e-WAT. ATM from FXR^{-/-} e-WAT showed significantly lower expression of TNF α and slight not significant lower expression of IL6 (**Fig9A**), consistently with the decreased M1 polarization of . No difference of IL1 β expression was observed. On the other side, a decreased expression of TNF α , IL6 and IL1 β gene was found in FXR^{-/-} adipocytes (**Fig9B**). In parallel, FXR^{-/-} compared FXR^{+/+} adipocytes showed higher expression of aP2 (FABP-4) and AdipoQ (adiponectin) genes (**Fig9B**), both considered markers of improved adipocyte function. Taken together, gene expression analysis revealed that both adipocytes

and macrophages contribute to the inflammatory state of adipose tissue. FXR was described to be expressed both in macrophages and in adipocytes (Renga B *et al.*, *Biochim Biophys Acta.*, 2009 ; Yao J *et al.*, *World J Gastroenterol.*, 2014 ; Vavassori P *et al.*, *J Immunol.*, 2009 ; Abdelkarim M *et al.*, *J Biol Chem*, 2010). To understand how the expression of FXR in adipocytes impacts the response to HFD, a FXR cell specific deficient mouse model was generated.

Adipocyte-specific FXR-deficiency protects from HFD-induced hyperglycemia and glucose intolerance but not from obesity.

We showed that whole body FXR-deficiency protects from HFD-induced adipose tissue inflammation and that both FXR^{-/-} ATM and adipocytes display decreased inflammatory gene expression. Since FXR is expressed also in macrophages, we generated a mouse model where FXR gene is specifically deleted in adipocytes, the Ad-FXR^{-/-} mice (**Fig10A, B, C**). To generate Ad-FXR^{-/-} mice, FXR-floxed mice (Sinal CJ *et al.*, *Cell*, 2000) were crossed with mice expressing the Cre recombinase protein under the control of adiponectin promoter, which is specifically activated in adipocytes (adiponectin-Cre⁺ mice) (Lee KY *et al.*, *Diabetes*, 2013). To study the role of FXR in the adipocytes during the development of obesity and to evaluate the impact on systemic metabolic homeostasis, Ad-FXR^{-/-} mice and FXR^{fl/fl} (FXR floxed) littermates were fed a LFD or a HFD for 12 weeks. The weight gain was comparable in the two genotypes, both on LFD and on HFD (**Fig11A**). Fed LFD FXR^{fl/fl} and Ad-FXR^{-/-} mice did not show differences in fasting glycaemia. By contrast, Ad-FXR^{-/-} mice showed significant reduced fasting glycemia compared to FXR^{fl/fl} mice from 7 weeks on HFD (**Fig11B**). Glucose tolerance tests (IPGTT) showed no differences between LFD feeding FXR^{fl/fl} and Ad-FXR^{-/-} mice, whereas on HFD Ad-FXR^{-/-} displayed significant improved glucose tolerance compared to FXR^{fl/fl} mice (**Fig11C**). Insulin tolerance test (ITT) revealed a slight but not significant increase insulin sensitivity in Ad-FXR^{-/-} compared to FXR^{fl/fl} (**Data not shown**). Taken together, even though Ad-FXR^{-/-} HFD feeding develop obesity similarly to FXR^{fl/fl} littermates, FXR-deficiency leads to improve systemic glucose metabolism.

FXR-deficiency in adipocyte protects from HFD-induced adipose tissue inflammation.

To exactly determine the mechanism by which the adipocyte FXR-deficiency improves systemic glucose metabolism, the inflammatory status of adipose tissue from HFD feeding FXR^{fl/fl} and Ad-FXR^{-/-} mice was characterized. Immune cell recruitment and inflammatory marker expression in e-WAT from FXR^{fl/fl} and Ad-FXR^{-/-} mice on HFD were evaluated. Whereas HFD drives macrophage infiltration with the same extent in both genotypes (**Fig12A**), cytofluorimetric analysis revealed a significant decreased polarization of macrophages through M1 phenotype in the e-WAT of Ad-FXR^{-/-} mice compared to FXR^{fl/fl} mice on HFD (**Fig12B left**). Even if no difference was observed in the percentage of M2 macrophages (**Fig12B middle**), the ratio between M1/M2 macrophages was decreased in Ad-FXR^{-/-} mice (**Fig12B right**). Consistently we found a decrease in gene expression of macrophage *adgre1* (F4/80) and M1 macrophage *Itagx* (CD11c) markers, but also a slightly decreased of the M2 macrophage marker MRC1 (CD206) expression, in e-WAT of Ad-FXR^{-/-} mice (**Fig12C**). The inflammatory gene expression in e-WAT from FXR^{fl/fl} and Ad-FXR^{-/-} mice was analyzed. Our results showed a significant decreased expression of IL6 and of TNF α , but not of IL1 β in e-WAT from Ad-FXR^{-/-} mice on HFD (**Fig12D**). These results indicate that FXR-deficiency in adipocytes protects, at least in part, from HFD-induced adipose tissue inflammation.

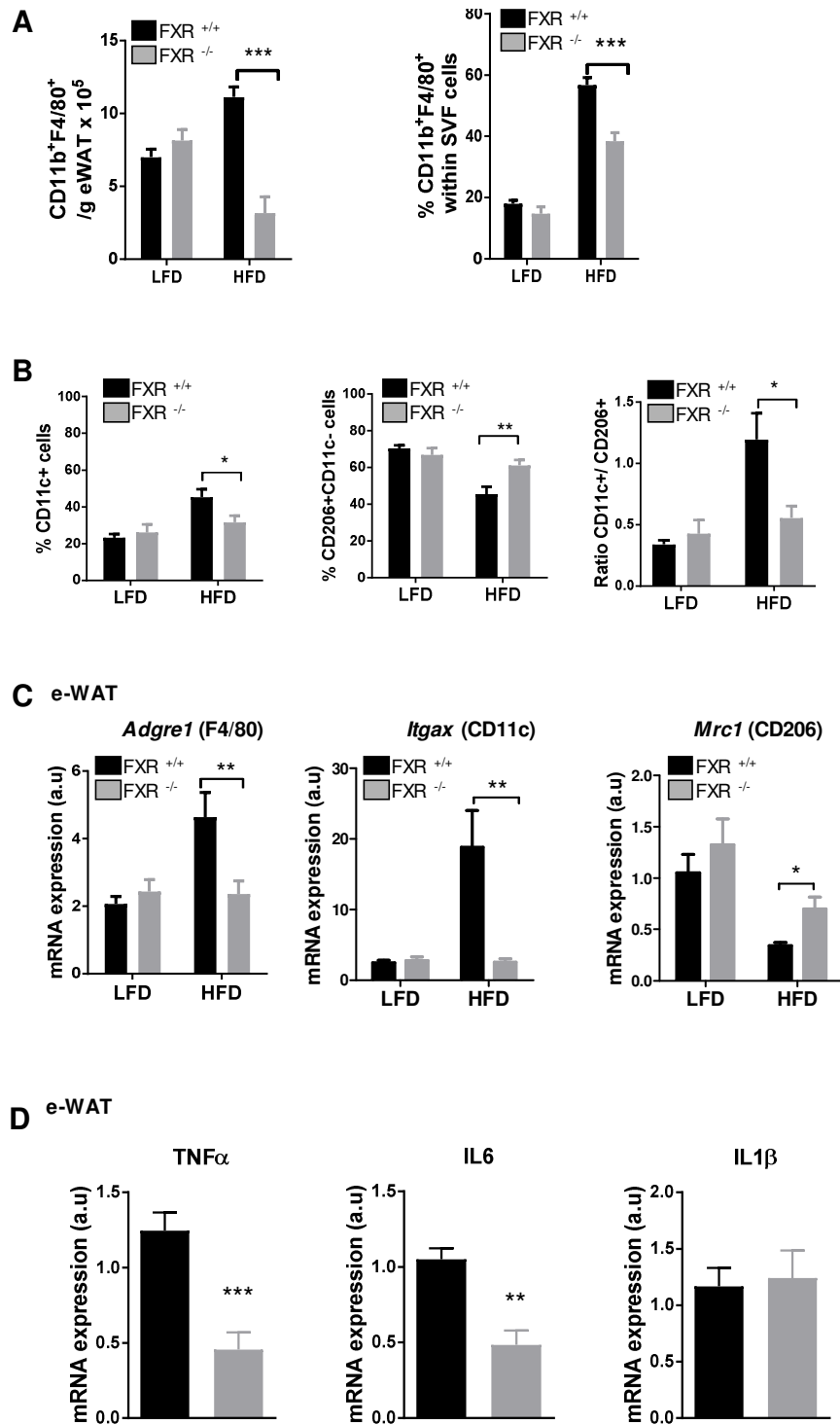
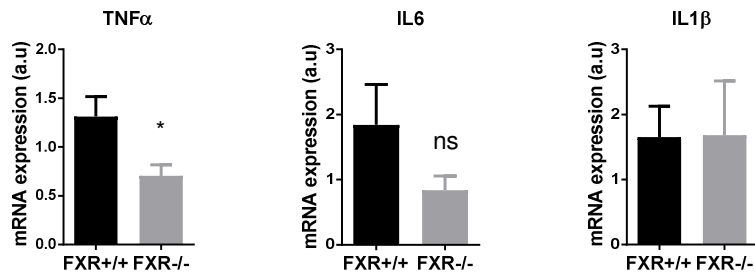


Figure 8. FXR^{-/-} mice are protected from high fat diet (HFD)-induced macrophage infiltration and M1 polarization in epididymal adipose tissue (e-WAT). e-WAT from FXR^{-/-} and FXR^{+/+} mice fed LFD (n=4/genotype) or HFD (n=9/genotype) for 12 weeks was analyzed. (A) Macrophage (CD45⁺/CD11b⁺/F4/80⁺) number expressed per gram of e-WAT (left) and expressed as % of stromal vascular fraction (SVF) (right) was evaluated by flow cytometry (FACS analysis). (B) M1 (CD11c⁺) (left), M2 (CD206⁺/CD11c⁻) (middle) and ratio of M1/M2 (right) macrophage expressed as % of total macrophages (CD45⁺/CD11b⁺) were analyzed by FACS. (C) Expression of *adgre1* (F4/80), *Itgax* (CD11c) and *Mrc1* (CD206) genes was evaluated by qPCR, normalized to CyclophilinA and expressed relative to those of FXR^{+/+} mice on LFD, arbitrarily set to 1. (D) Inflammatory gene expression in e-WAT normalized to CyclophilinA and expressed relative to those of FXR^{+/+} mice, arbitrarily set to 1. Values are expressed as mean \pm SEM; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. Statistical significances are determined by two-way ANOVA.

A e-WAT macrophages



B eWAT Mature adipocytes

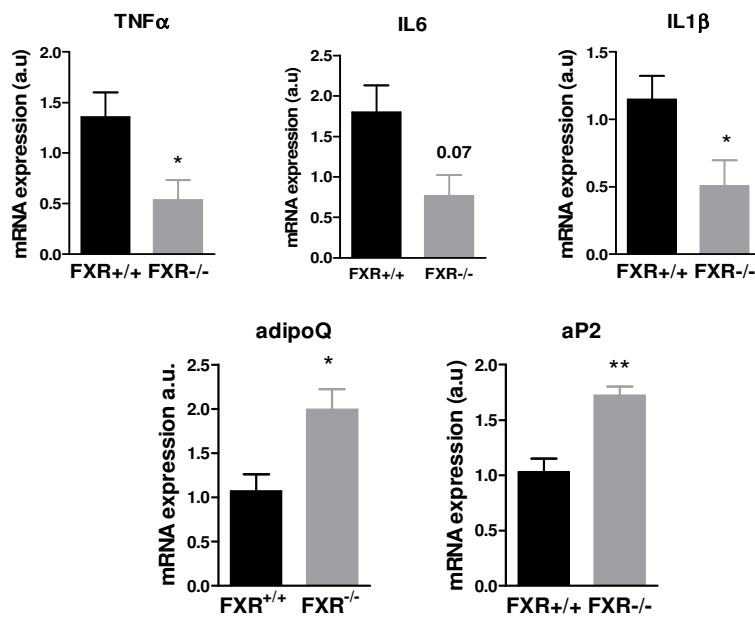


Figure 9. Inflammatory gene expression is decreased in mature adipocytes and in adipose tissue macrophages, of FXR^{-/-} mice on HFD. Gene expression in (A) macrophages and (B) mature adipocytes from FXR^{-/-} and FXR^{+/+} mice fed HFD (n=9/ genotype) was analyzed by qPCR, normalized to CyclophilinA and expressed relative to those of FXR^{+/+} mice on HFD, arbitrarily set to 1. Values are expressed as mean \pm SEM; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. Statistical significances are determined by student's *t*-test.

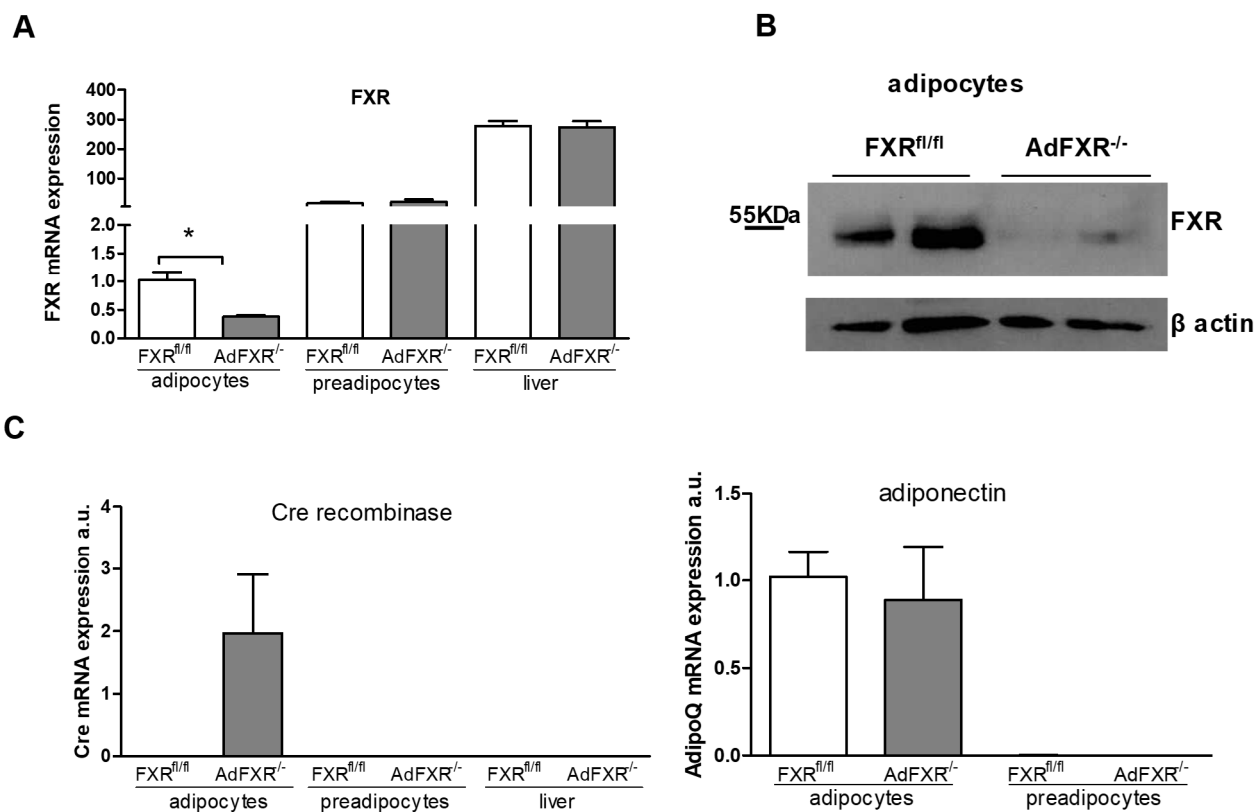


Figure 10. Generation of adipocytes-specific FXR^{-/-} mice (AdFXR^{-/-}). (A) Gene expression of adiponectin (AdipoQ), cre recombinase and FXR was evaluated by qPCR in e-WAT mature adipocytes, e-WAT preadipocytes and liver from FXR^{fl/fl} and AdFXR^{-/-} mice (n=6/genotype). (B) FXR protein expression was analyzed by western blotting in e-WAT mature adipocytes from FXR^{fl/fl} and AdFXR^{-/-} mice on HFD. For qPCR analyses, gene expression was normalized to CyclophilinA and expressed relative to those of FXR^{fl/fl} mice. Values are expressed as mean ± SEM, * p<0.05. Statistical significances are determined by student's *t*-test.

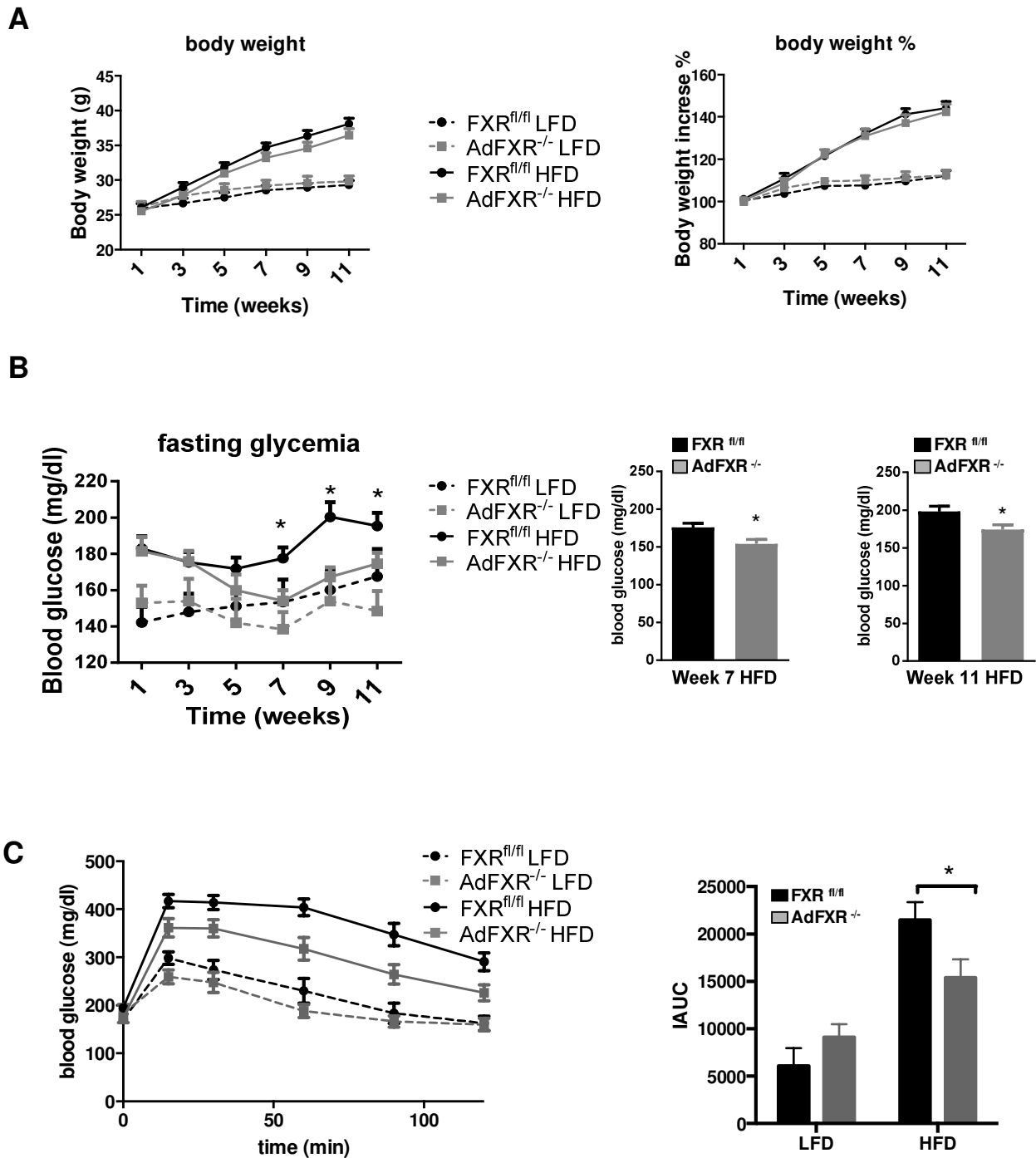


Figure 11. Adipocyte (Ad)-FXR^{-/-} mice are protected from HFD-induced hyperglycemia and glucose intolerance but not from obesity. Ad-FXR^{-/-} mice and FXR^{fl/fl} littermates were fed LFD (n=8/ genotype) or HFD (n=10/ genotype) for 12 weeks. (A) Body weight expressed in g (*left*) and as % of body weight increase (*right*). (B) Fasting glycemia was monitored weekly during the diet (*left*); fasting glycemia at 7 and 11 weeks of diet (*right*). (C) Blood glucose excursion (*left*) and integrated AUC (*right*) after administration of an intraperitoneal glucose bolus (1 g/kg glucose) were measured at the end of the feeding period. (D) Blood glucose excursion (*left*) and integrated AUC (*right*) after administration of an intraperitoneal insulin bolus (75 mg/kg glucose) were measured at the end of the feeding period. Values are expressed as mean ± SEM; *p<0.05, **p<0.01. Statistical significances are determined by two-way ANOVA or student's *t*-test.

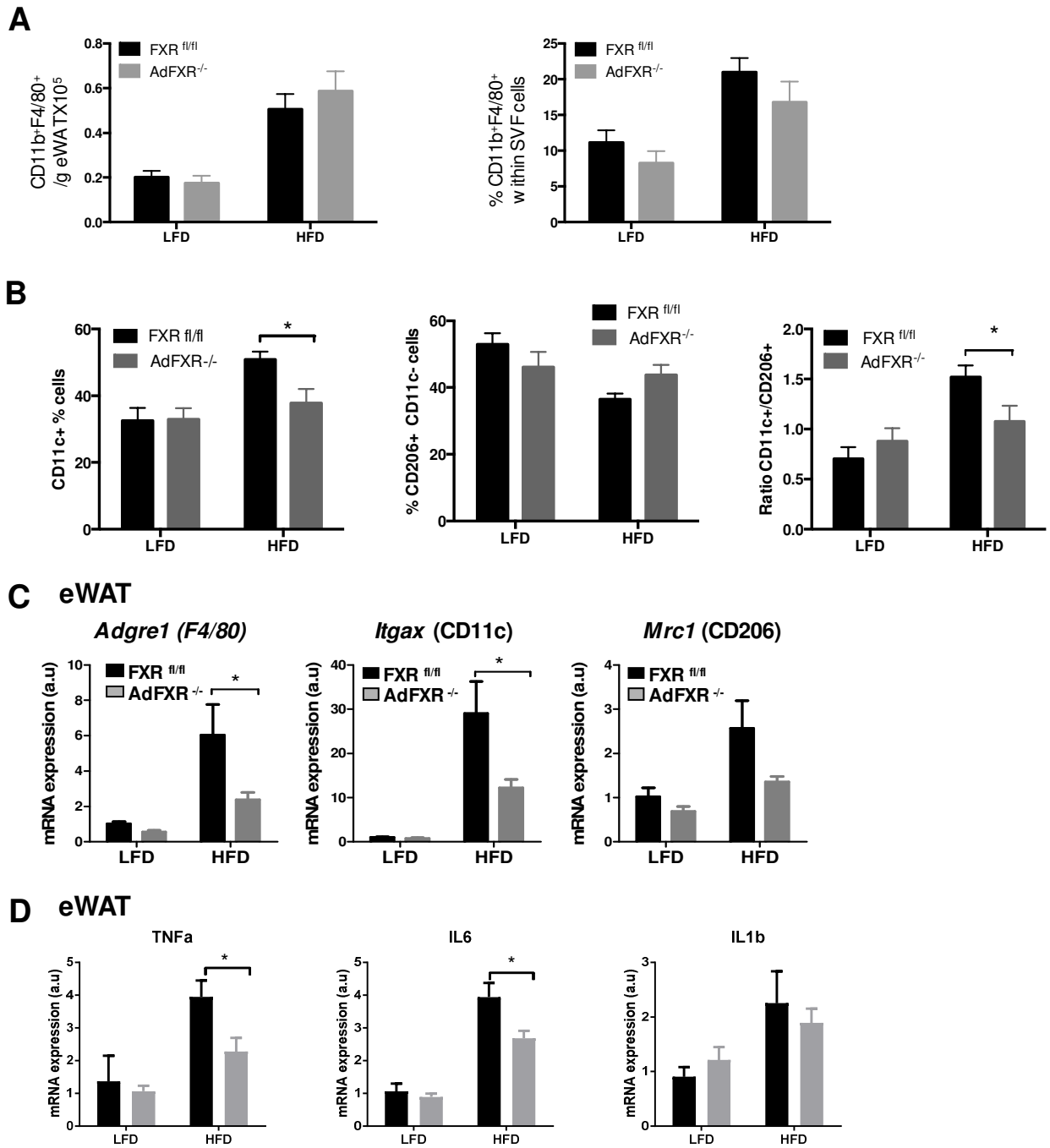


Figure 12. Ad-FXR^{-/-} mice display decreased HFD-induced macrophage infiltration and M1 polarization in e-WAT. e-WAT from FXR^{fl/fl} and Ad-FXR^{-/-} mice fed LFD (n=5/genotype) or HFD (n=7/genotype) for 12 weeks was analyzed. (A) Macrophage (CD45⁺/CD11b⁺/F4/80⁺) expressed per gram of e-WAT (left) or as % of stromal vascular fraction (SVF) (right) was evaluated by flow cytometry (FACS analysis). (B) M1 (CD11c⁺) (left), M2 (CD206⁺/CD11c⁻) (middle) and ratio of M1/M2 (right) macrophage expressed as % of total macrophages (CD45⁺/CD11b⁺) were analyzed by FACS. (C) Expression of *adgre1* (F4/80), *Itgax* (CD11c) and *Mrc1* (CD206) genes was evaluated by qPCR, normalized to CyclophilinA and expressed relative to those of FXR^{fl/fl} mice on LFD, arbitrarily set to 1. (D) Inflammatory gene expression in e-WAT normalized to CyclophilinA and expressed relative to those of FXR^{fl/fl} mice on LFD, arbitrarily set to 1. Values are expressed as mean ± SEM; * p<0.05. Statistical significances are determined by two-way ANOVA.

Conclusions / Discussion / Perspectives

Conclusions/discussion - Le rôle de FXR dans la fonction métabolique de l'adipocyte blanc reste encore méconnu. Quelques études montrent qu'il est nécessaire pour une différenciation totale de l'adipocyte et participe à la fonction de cette cellule particulière (Cariou B et *al.*, 2006 ; Rizzo G et *al.*, 2006 ; Abdelkarim M et *al.*, 2010). Toutefois, les mécanismes mis en jeu ne sont pas identifiés. La génération et la caractérisation de souris déficientes pour FXR spécifiquement dans l'adipocyte blanc, couplées à des études *ex vivo* et *in vitro*, est une stratégie pour progresser dans la réponse à cette question. Nous avons ainsi montré que ces souris sous un régime riche en graisses, tout en prenant le même poids que les souris contrôles, présente une moindre inflammation du tissu adipeux blanc (Marino A, Caron S, *données non-publiées*), suggérant un rôle pro-inflammatoire de FXR. Ces résultats vont à l'encontre des résultats obtenus dans d'autres organes métaboliques, tels que le foie et l'intestin, qui montrent un effet anti-inflammatoire de FXR (Cf **Partie III.2 ; 3.1 ; Contexte scientifique**). Un article suggère ce même rôle anti-inflammatoire dans le tissu adipeux blanc (Shihabudeen MS et *al.*, 2015). Un de nos défis va être de mettre en évidence les mécanismes mis en jeu dans notre modèle de souris pour comprendre le phénotype de ces dernières, mais aussi pour comprendre pourquoi nos résultats vont à l'encontre des résultats déjà publiés.

Perspectives - Des études ont déjà été menées directement dans le tissu adipeux blanc et notamment dans des pré-adipocytes présents dans la fraction stromale collectée à partir de tissu adipeux blanc épидидymal de souris sauvages et FXR^{-/-} et différenciées *in vitro* en adipocytes. Nous avons ainsi montré que l'absence de FXR conduisait bien à une diminution de l'inflammation après stimulation des adipocytes par des cytokines pro-inflammatoires (Marino A, Caron S, *données non-publiées*), ce qui confirme de nouveau le rôle pro-inflammatoire de FXR présent dans l'adipocyte. L'immunophénotypage, plus élargi, des autres dépôts de tissu adipeux est aussi programmé. La taille des adipocytes des tissus adipeux blancs épидидymal et sous-cutanées des souris Ad-FXR^{-/-} est aussi en cours d'analyse, ce qui pourrait donner une idée de la sensibilité de ces cellules à l'insuline. En outre, nous prévoyons d'analyser le sécrétome de ces souris pour identifier les adipocytokines qui pourraient être différenciellement produites, par rapport aux souris contrôles, par les tissus adipeux blanc des souris Ad-FXR^{-/-}, différence qui pourrait expliquer l'amélioration métabolique de ces souris. Enfin, l'identification de gènes et de voies différenciellement exprimés et/ou activés dans le tissu adipeux blanc des souris Ad-FXR^{-/-} pourraient nous permettre de mieux comprendre le phénotype de ces souris. Des premières analyses de puces ont été réalisées (Marino A, Caron S, *données non-publiées*), mais les gènes/voies identifiés restent limités. L'alternative est de refaire des puces ADN en utilisant des adipocytes matures.

En parallèle, d'autres investigations ont été menées dans les autres organes métaboliques des souris Ad-FXR^{-/-}. Des résultats très intéressants suggèrent une modification du métabolisme dans l'intestin et le tissu adipeux brun (Butruille L, Muhr-Tailleux A, Caron S, *données non-publiées*). Les études continuent.

Enfin, il est maintenant clairement établi que l'adipocyte blanc contribue, en connexion avec les cellules immunitaires, à l'induction et l'entretien de l'inflammation dans le tissu adipeux, notamment dans des contextes d'obésité (Pour revue, Huh JY et *al.*, 2014). Rien n'est décrit sur le rôle de FXR exprimé dans l'adipocyte dans ce rôle. Cette étude originale pourrait être menée en collaboration avec le Dr David Dombrowicz dans notre unité (Equipe 3), spécialiste en immunologie.

Les investigations, sur les aspects métaboliques, en cours et à venir seront réalisées dans le cadre du stage post-doctoral de Laura Butruille (sous la direction de Anne Muhr-Tailleux et de moi-même).

3.2. Interaction fonctionnelle entre le récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) et la voie canonique Wnt/ β -caténine dans le métabolisme hépatique

Gestion du projet

Thésards et/ou stagiaires post-doctoraux impliqués dans le projet : Thomas Dziwosz (Master 2, 2015-2016 ; thèse depuis septembre 2016 co-financée par l'Institut Pasteur de Lille et la Région les Hauts-de-France) ; Arianna Marino (Chercheuse post-doctorale, 2014-2017).

Contexte scientifique

La voie canonique Wnt/ β -caténine

Généralités sur la voie Wnt/ β -caténine

Le mot Wnt est une combinaison du nom des deux gènes homologues chez la Drosophile et la souris, soit Wg, le gène wingless (= « sans aile ») de Drosophile et Int-1, le gène homologue murin identifié comme le site d'intégration préférentiel du MMTV (=mouse mammary tumour virus). Les études menées chez la Drosophile, le Xénope et ensuite les mammifères ont mis en évidence la grande conservation, au cours de l'évolution, des voies de signalisation activées par les ligands Wnt (pour revue, Clevers H, 2006). Chez les mammifères, les ligands de la voie Wnt appartiennent à une grande famille de glycolipoprotéines hydrophobiques sécrétées constituée de 19 membres qui sont reconnus par 12 récepteurs/corécepteurs. Les ligands Wnt activent des voies dépendantes (voie canonique) ou indépendante de l'activation de la protéine β -caténine (pour revue, Sethi JK and Vidal-Puig A, 2010). Au niveau du foie, les Wnt sont exprimés et sécrétés par les différents types cellulaires, c'est-à-dire par les hépatocytes, les cellules de Küpffer, les cellules stellaires (stellate cells), les cellules épithéliales biliaires et les cellules endothéliales délimitant les sinusoides (pour revues, Thompson MD and Monga SP, 2007 ; Monga SP, 2014).

Les rôles de la voie canonique Wnt/ β -caténine

Les glycoprotéines Wnt sont des molécules morphogéniques qui spécifient le devenir de différents types cellulaires ou différentes régions d'un organisme selon leurs concentrations. Ainsi, ils ont de nombreux rôles au cours de l'embryogénèse et dans le développement de nombreux organes, en régulant de nombreux processus cellulaires, dont la prolifération, le destin cellulaire, la différenciation des cellules, l'expansion des tissus, mais aussi le contrôle de la division cellulaire asymétrique (**Figure 8**) (pour revue, Logan CY and Nusse R, 2004 ; Clevers H, 2006).

La voie Wnt/ β -caténine joue aussi de nombreux rôles dans le maintien et le remodelage de nombreux tissus et organes adultes. Ainsi, elle régule la prolifération, le destin cellulaire, la différenciation, l'auto-renouvellement de nombreux types cellulaires, mais elle intervient aussi lors du vieillissement

de l'os, la plasticité du tissu adipeux, la régénération du foie et du muscle, la progression des cancers (**Figure 8**) (pour revue, Sethi JK and Vidal-Puig A, 2010).

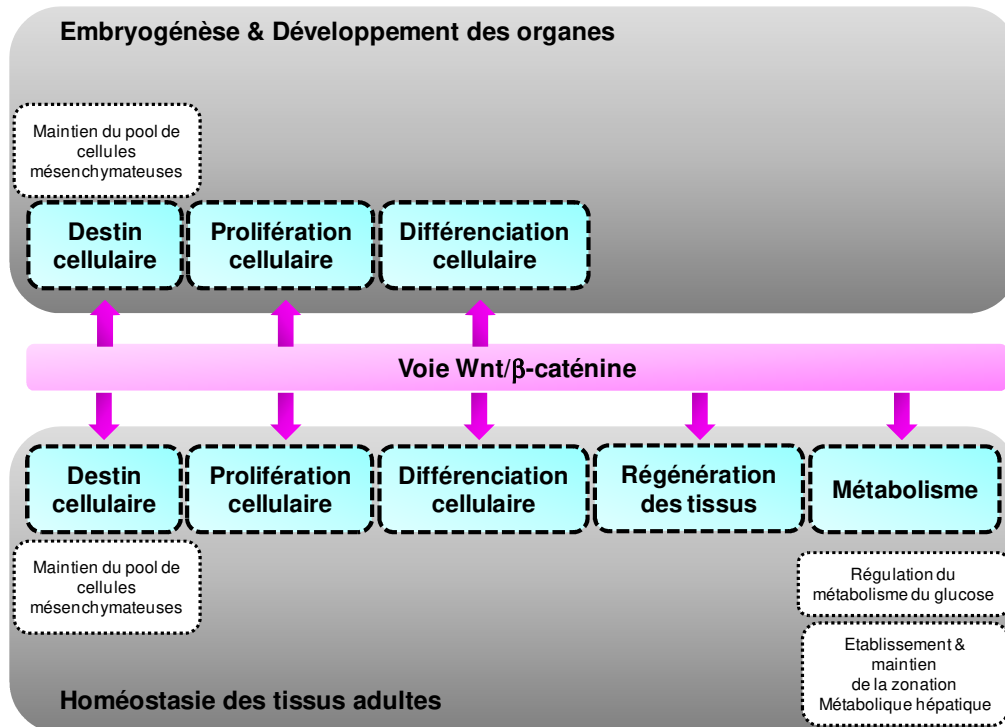


Figure 8. Les rôles multiples de la voie Wnt/β-caténine. La voie Wnt/β-caténine joue un rôle important au cours de l'embryogénèse et le développement de nombreux organes en intervenant dans plusieurs processus cellulaires, dont la prolifération, le destin cellulaire, la différenciation des cellules, l'expansion des tissus et le contrôle de la division cellulaire asymétrique. Cette voie intervient aussi dans le maintien et le remodelage de nombreux tissus et organes adultes de part son contrôle de différents processus cellulaires. Elle intervient aussi dans le contrôle du métabolisme, notamment du glucose, et dans la mise en place et le maintien de la zonation métabolique dans le foie. Des perturbations de l'activité de la voie Wnt/β-caténine entraînent le développement de cancers, mais aussi de maladies du foie, dont les stéatoses et fibroses hépatiques.

L'activation moléculaire de la voie canonique Wnt/β-caténine

La voie dépendante (voie canonique) de la protéine β-caténine

La voie Wnt/β-caténine est activée après fixation d'un ligand Wnt sur le complexe récepteur Frizzled/LRP (low density lipoprotein (LDL) receptor-related protein) (pour revue, Logan CY and Nusse R, 2004). Cette fixation entraîne la désactivation du complexe protéique de dégradation de la protéine β-caténine constitué des protéines Axine, GSK-3 (glycogen synthase kinase-3β) et APC (Adenomatous Polyposis Coli). La protéine β-caténine est alors stabilisée et transloquée dans le noyau où elle se lie et active les facteurs de transcription TCF/LEF (T-cell factor/lymphoid-enhancer binding factor). Ces deux facteurs de transcription vont induire la transcription des gènes cibles de la voie canonique Wnt/β-caténine. En l'absence de ligand Wnt, le complexe protéique de dégradation de la protéine β-caténine est actif, phosphoryle la protéine β-caténine qui est alors dégradée par le protéasome, rendant inactive la voie Wnt (**Figure 9**).

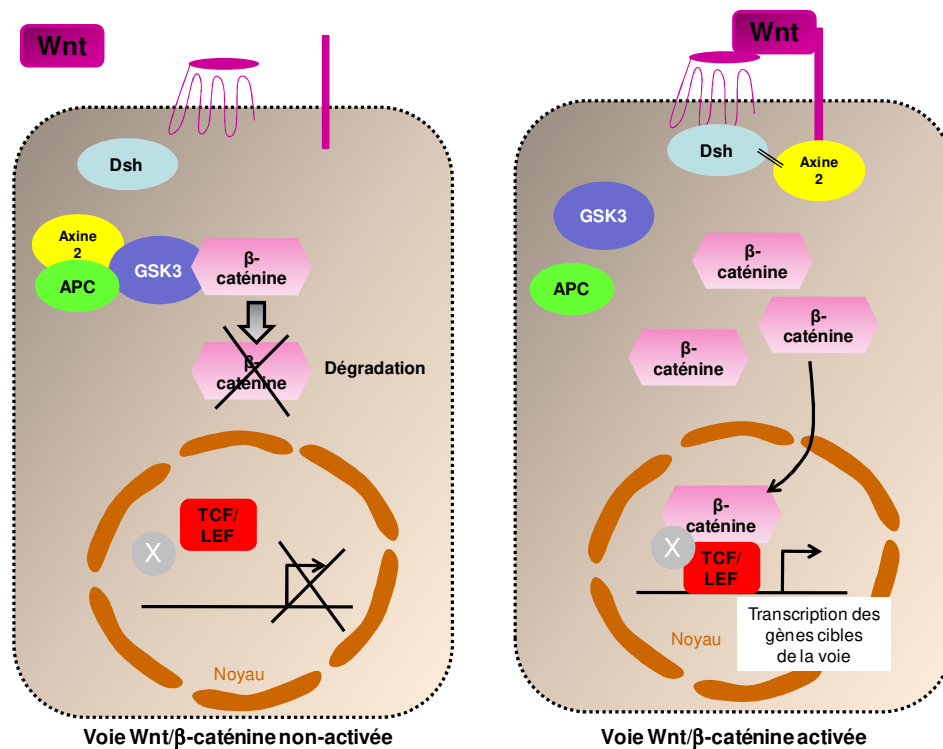


Figure 9. L'activation moléculaire de la voie canonique Wnt/β-caténine. En l'absence de ligand Wnt (à gauche), le complexe protéique de dégradation (composé des protéines Axine, GSK-3 et APC) de la protéine β-caténine est actif : la protéine β-caténine est phosphorylée, ubiquitinylée et dégradée par le complexe du protéasome. En présence d'un ligand Wnt (à droite), le complexe protéique de dégradation de la protéine β-caténine est inactif : la protéine β-caténine est stabilisée, transloquée dans le noyau où elle se lie et active les facteurs de transcription TCF/LEF, ce qui entraîne la transcription des gènes cibles de la voie canonique GSK-3, glycogène synthase kinase-3β ; APC, Adénomateux Polyposis Coli ; TCF/LEF, T-cell factor/lymphoid-enhancer binding factor.

La voie indépendante (voie non-canonique) de la protéine β-caténine

Les voies Wnt non-canoniques, c'est-à-dire indépendantes de l'activation de la protéine β-caténine, sont nettement moins bien caractérisées. Classiquement, sont distinguées les voies non-canoniques Wnt/PCP (planar cell polarity) et Wnt/Ca²⁺. Des revues anciennes et plus récentes font un état des lieux des connaissances de ces voies (pour revue, Semenov MV et al., 2007 ; Sethi JK and Vidal-Puig A, 2010).

La protéine β-caténine dans les jonctions adhérentes

La protéine β-caténine est un composé des jonctions adhérentes impliquées dans la jonction entre les cellules dans les tissus épithéliaux et endothéliaux. La protéine Wnt/β-caténine forme un pont entre le domaine cytoplasmique de la protéine E-cadhérine et les filaments d'actine du cytosquelette (pour revues, Monga SP, 2014 ; Monga SP, 2015). Cette connection entre le pool de protéines β-caténine impliquées dans la signalisation intracellulaire et celui impliqué dans ces jonctions adhérentes a commencé à être étudié (Kam Y and Quaranta V, 2009 ; Dar MS et al., 2016), mais tout est loin d'être compris. Il est intéressant de noter que le pool de protéines β-caténine peut être libéré en réponse à certains signaux, dont métaboliques tels que le glucose (Haidari M et al., 2014).

Les régulateurs de la voie canonique Wnt/ β -caténine

Outre les ligands Wnt, d'autres activations de la protéine β -caténine ont été décrites par des mécanismes dépendants ou pas du récepteur Wnt. Ainsi, plusieurs facteurs de croissance induisent l'activation de la protéine β -caténine dans des contextes physiologiques ou pathologiques (contexte de carcinogénèse) (pour revue, Monga SP, 2014). Dans des contextes physiologiques, des facteurs de croissance, tels que le HGF (hepatocyte growth factor) et l'EGF (epidermal growth factor), entraînent une activation des protéines β -caténine impliquées dans les jonctions adhérentes par activation de récepteurs à tyrosine kinase (Monga SP et al., 2002 ; Tan X et al., 2005). Dans des contextes pathologiques, d'autres facteurs de croissance, tels que le TGF (β) (transforming growth factor β), induisent l'activité de la protéine β -caténine par des mécanismes non totalement élucidés, mais qui feraient intervenir la PKA (protein kinase A) (Hino S et al., 2005 ; Taurin S et al., 2006 ; Hoshida Y et al., 2009).

Plusieurs études mettent en évidence une activation de la voie Wnt/ β -caténine par le glucose. La première menée dans les macrophages met en évidence une augmentation croissante de la présence de la protéine β -caténine lorsque les concentrations de glucose sont augmentées, par diminution de sa dégradation corrélée à une augmentation de l'induction de l'expression de ses gènes cibles (Anagnostou SH and Sheperd PR, 2008). Une autre étude met en évidence une activation de la voie Wnt/ β -caténine par N-glycosylation de plusieurs protéines de la voie, notamment du co-récepteur LRP5/6 dans un modèle de cellules de cancer du sein (Vaira S et al., 2012). Cette activation entraîne une induction de l'expression du gène Thioredoxin-Interacting Protein (Txnip), un gène cible de la voie. Cette activation de la voie par le glucose entraîne une accumulation nucléaire de la protéine β -caténine nécessaire à l'induction de l'expression des gènes cibles de la voie (Chocarro-Calvo A et al., 2013). Ainsi, une co-stimulation de la voie par un ligand Wnt et du glucose semblerait indispensable pour une bonne activation de la voie. Une autre étude montre que cette augmentation de l'activation de la voie Wnt/ β -caténine est liée à la O-GlcNAcylation de la protéine β -caténine qui serait alors stabilisée (Zhou F et al., 2016). Il est intéressant de noter que dans les cellules endothéliales, des fortes concentrations de glucose entraînent la libération des protéines β -caténine engagées dans les jonctions adhérentes, ce qui conduit à une augmentation de l'expression des gènes cibles de la voie (Haidari M et al., 2014).

La zonation métabolique hépatique et la voie Wnt/ β -caténine

Qu'est-ce que la zonation métabolique ?

Le foie est organisé en lobules constitués de travées d'hépatocytes, les cellules parenchymales majeures du foie, qui s'étendent entre la veine centrale et les triades portales, constituées de la veine porte, de l'artère hépatique et du canal cholédoque (**Figure 10**) (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011). Le sang rentrant dans le foie par la veine porte et l'artère hépatique, un gradient décroissant d'oxygène, hormones, facteurs de croissance et nutriments s'établit des triades portales vers la veine centrale, exposant les hépatocytes à ces molécules de façon différente suivant leur position dans ces travées. Ainsi, il est question d'hépatocytes périportaux à proximité de la triade portale, d'hépatocytes péricentraux/périveineux/centrolobulaires à proximité de la veine cave et d'hépatocytes intermédiaires entre ces deux zones. Cette zonation s'exprime aussi en terme de métabolisme – il est

question de zonation métabolique - puisque les métabolismes contrôlés par ces différents types d'hépatocytes ne sont pas les mêmes.

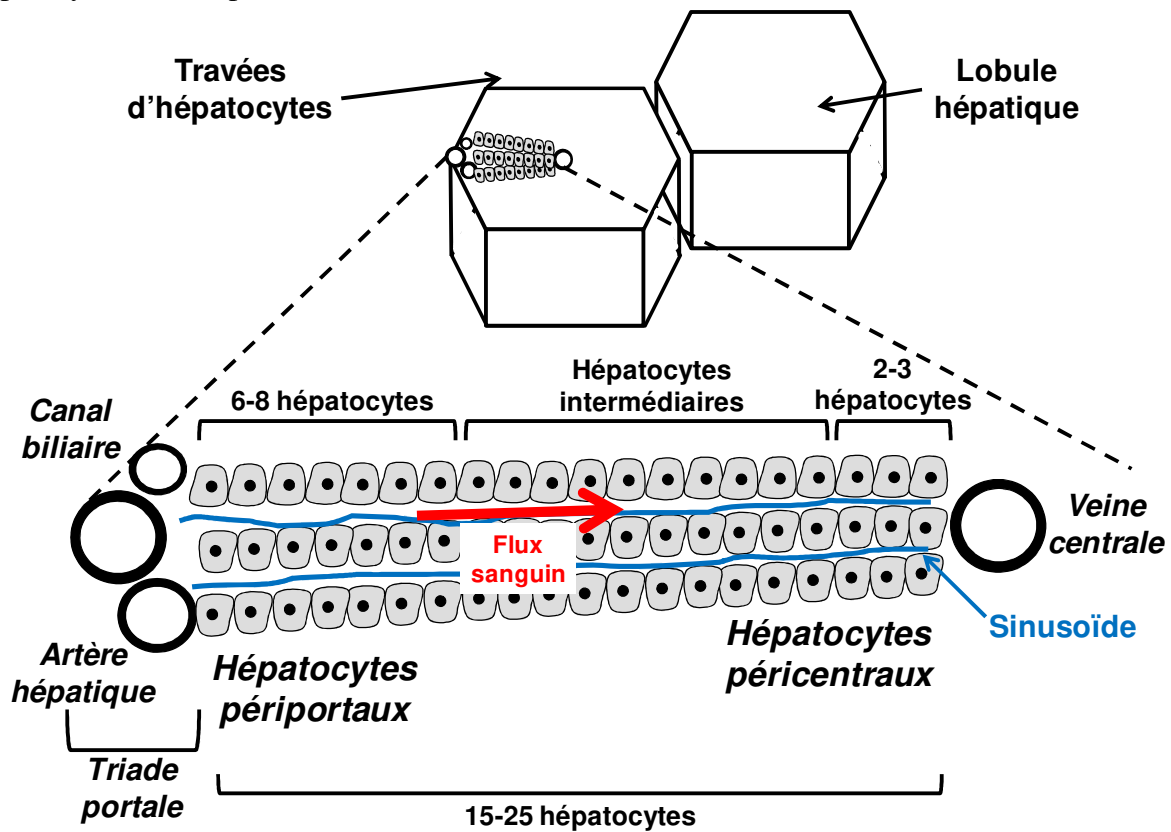


Figure 10. Le foie est organisé en lobules constitués de travées d'hépatocytes. Le foie est organisé en lobules hépatiques hexagonaux très vascularisés. Dans ces lobules, les hépatocytes sont organisés en travées qui s'étendent des triades portales, constituées de la veine porte, de l'artère hépatique et du canal cholédoque, et les veines centrales qui sont au centre de chaque lobule. Le sang arrive dans le foie par la veine porte (75% du sang total), ce sang veineux étant en provenance de l'intestin grêle, de l'estomac, du pancréas et de la rate. Le reste du sang (25% du sang total), du sang artériel en provenance de l'aorte, arrive dans le foie par l'artère hépatique. Les branches terminales de la veine porte et de l'artère hépatique fusionnent et le sang entre dans les sinusoides, des petits vaisseaux délimités par des cellules endothéliales espacées et situés entre les travées d'hépatocytes. Le sang circule dans ces sinusoides et ressort par la veine centrale de chaque lobule. Les veines centrales des lobules se rejoignent pour former les veines hépatiques se déchargeant ensuite dans la veine cave qui permet au sang de quitter le foie.

La zonation des différents métabolismes

Beaucoup de protéines du foie sont synthétisées par tous les hépatocytes, sans que cette synthèse soit particulièrement zonée. Ainsi, l'albumine est synthétisée par tous les hépatocytes, toutefois avec une synthèse plus importante par les hépatocytes périportaux (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011). D'autres fonctions sont zonées, dont parmi les plus étudiées, le métabolisme du glucose, celui des drogues et xénobiotiques et la détoxification de l'ammoniac (**Figure 11**) (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011). En ce qui concerne la zonation du glucose, la néoglucogénèse (production *de novo* de glucose) est plutôt assurée par les hépatocytes périportaux où l'enzyme clé, la phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), est la plus exprimée, tandis que la glycolyse (oxydation du glucose) est plutôt assurée par les hépatocytes péricentraux qui expriment les protéines nécessaires, la glucokinase (GK) et la liver pyruvate kinase (LPK). Le métabolisme des drogues et

xénobiotiques est plutôt réalisé par les hépatocytes péricentraux. La détoxification de l'ammoniac, en provenance de l'intestin par la veine porte, et sa transformation en urée sont assurés par les hépatocytes périportaux qui expriment les enzymes carbamoylphosphate (CPS1) et arginase 1 (Arg1), tandis que les hépatocytes péricentraux transforment l'ammoniac résiduel en glutamine grâce à l'action de la glutamine synthase (GS). D'autres métabolismes sont zonés, mais moins bien caractérisés. Ainsi, concernant le métabolisme des lipides, la lipogenèse (synthèse *de novo* d'acides gras) est plutôt péricentrale, tandis que la dégradation des acides gras est plutôt périportale. La synthèse des acides biliaires à partir de cholestérol par la voie classique faisant intervenir l'enzyme Cyp7A1 est plutôt assurée par les hépatocytes péricentraux. Le métabolisme de plusieurs acides aminés, dont le catabolisme de l'histidine et de la sérine, est plutôt périportale, tandis que la synthèse de la glutamine, comme cité précédemment, est péricentrale (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011). Un article récent propose une étude plus systématique des gènes dont l'expression est zonée (Halpern KB et *al.*, 2017). Il est en outre intéressant de noter que certains métabolismes ont une zonation stable, tels que la détoxification de l'ammoniac, et d'autres une zonation dynamique, tels que le métabolisme du glucose et des drogues (pour revue, Gebhardt R and Matz-Soja M, 2014). Ce dynamisme est lié à des concentrations changeantes de certaines molécules apportées par le sang en provenance de la veine porte et/ou de l'artère hépatique. Ainsi, la zone d'expression de l'enzyme clé de la néoglucogénèse, la PEPCCK, dépend du statut nutritionnel : en cas de jeûne prolongé, son expression sera plus étendue au niveau de la zone périportale, des hépatocytes intermédiaires acquérant le phénotype périportale afin d'assurer la synthèse de cette enzyme lors d'un état privation en nutriments.

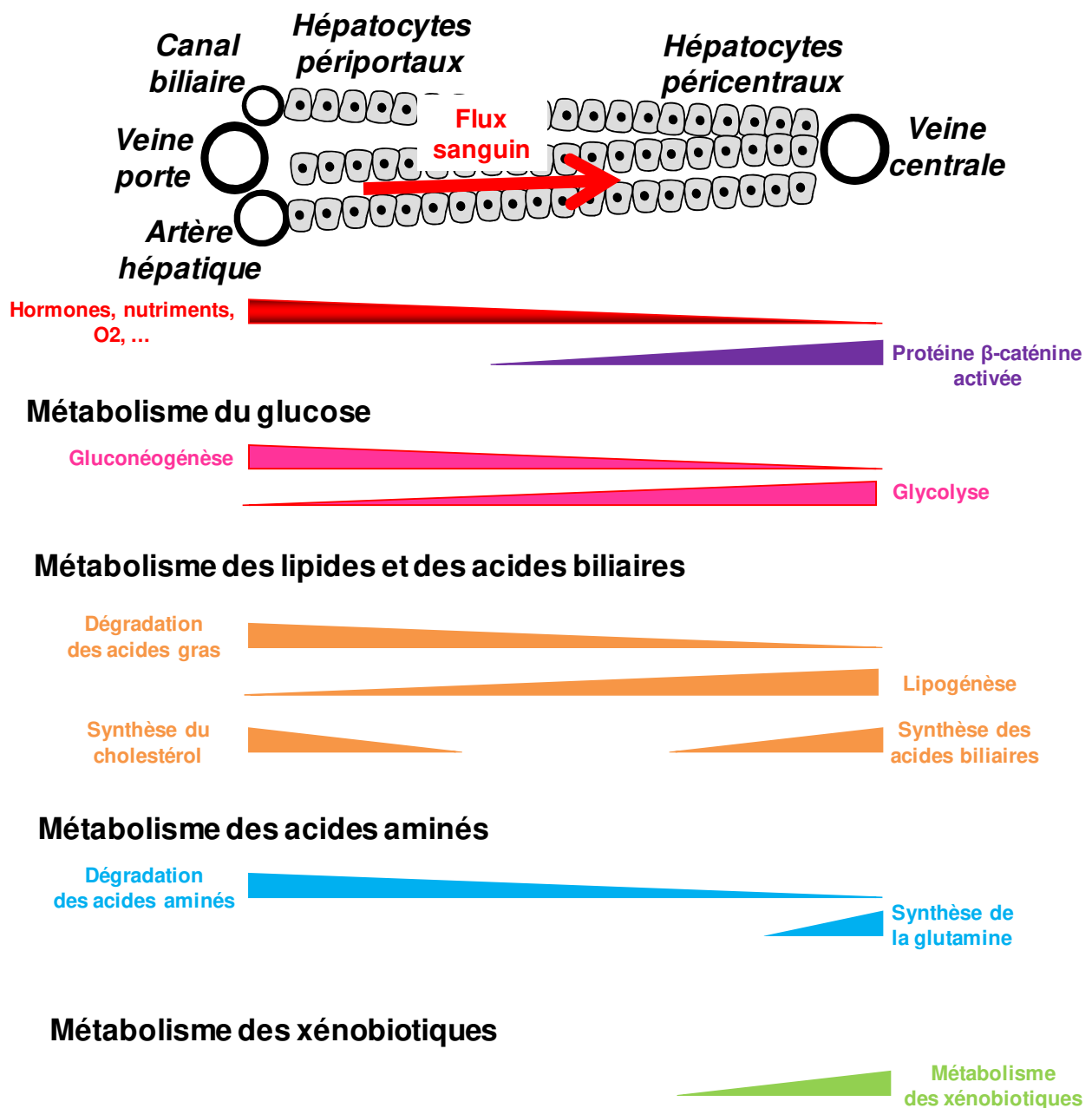


Figure 11. La zonation métabolique dans le foie. Le sang arrive dans le foie par la veine porte et l'artère hépatique et établit ainsi un gradient décroissant de dioxygène, hormones et nutriments de la triade portale vers la veine centrale. A l'opposé, un gradient décroissant de protéine β -caténine activée existe de la veine centrale vers la triade portale et intervient dans la zonation des différents métabolismes, glucidique, lipidique, des acides biliaires et des xénobiotiques, le long de l'axe veine portale-veine centrale.

La voie Wnt/ β -caténine est impliquée dans l'établissement et le maintien de la zonation métabolique dans le foie

La zonation dans le foie est décrite depuis quelques décennies, mais les mécanismes permettant son établissement et son maintien sont mal compris. Plusieurs hypothèses ont été avancées (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011). L'une d'elles propose que la zonation serait déterminée par les concentrations d'oxygène, hormones, facteurs de croissance et nutriments qui sont différentes suivant la position des hépatocytes le long de l'axe porto-central, créant des microenvironnements différents

qui définiraient le caractère plutôt périportal ou plutôt péricentral des hépatocytes (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011).

Cette zonation est aussi sous le contrôle de mécanismes moléculaires, mais ce n'est qu'assez récemment qu'ils ont été mis à jour. Les premiers liens entre la voie Wnt/ β -caténine et la zonation métabolique hépatique ont été établis grâce à l'observation du phénotype des carcinomes du foie dans lesquels une mutation de la voie Wnt/ β -caténine avait été identifiée (de la Coste A et *al.*, 1998 ; Hailfinger S et *al.*, 2006). En effet, ces tumeurs ont un transcriptome particulier, avec une expression préférentielle de gènes péricentraux. La description de l'existence d'une distribution d'expression complémentaire de la protéine β -caténine activée (en péricentral) et de la protéine APC (en périportal), inhibiteur de cette dernière, dans le foie adulte de souris a confirmé l'implication de la voie Wnt/ β -caténine dans l'établissement/maintien de la zonation métabolique hépatique (Benhamouche S et *al.*, 2006). La génération de souris déficientes pour APC spécifiquement dans le foie a définitivement montré cette implication (Benhamouche S et *al.*, 2006). En effet, l'activation, dans ces souris, de la voie Wnt/ β -caténine dans l'ensemble du lobule entraîne un programme périportal dans l'ensemble des hépatocytes. Ce rôle serait mis en œuvre principalement via l'établissement d'un gradient croissant de protéine β -caténine activée de la zone péricentrale vers la zone périportale, ce qui entraînerait des activations/inactivations différentes de gènes, et donc de voies métaboliques, suivant les hépatocytes.

Les autres acteurs de l'établissement et le maintien de la zonation métabolique hépatique

L'implication de la voie Wnt/ β -caténine dans la mise en place et le maintien de la zonation métabolique a été mise en évidence par la complémentarité entre l'expression de la protéine APC en dans la zone périportale et la protéine β -caténine activée dans la zone péricentrale (Benhamouche S et *al.*, 2006). Ainsi, la protéine **APC**, intervenant dans l'activation du complexe protéique de dégradation de la protéine β -caténine, joue un rôle dans la zonation par son rôle inhibiteur de la voie Wnt/ β -caténine. Ainsi, comme cité précédemment, la génération de souris déficientes pour APC spécifiquement dans le foie, entraînant l'activation de la voie Wnt/ β -caténine dans l'ensemble du lobule, entraîne un programme périportal dans l'ensemble des hépatocytes (Benhamouche S et *al.*, 2006). APC a été proposé comme le « gardien de la zonation ».

Toutefois, d'autres acteurs ont été décrits dans cette mise en place et maintien de la zonation métabolique. Ainsi, la voie **Ras/MAPK/ERK** induirait des gènes spécifiques des hépatocytes périportaux (Braeuning A et *al.*, 2007). Cette voie serait donc antagoniste de la voie Wnt/ β -caténine. Toutefois, d'autres auteurs avaient pourtant montré une coopération entre les voies Wnt/ β -caténine et Ras/MAPK/ERK dans certains processus cancéreux (Harada N et *al.*, 2004). Des investigations supplémentaires sont nécessaires.

Plus récemment, le récepteur nucléaire **HNF4 α** a été impliqué dans la zonation métabolique. HNF4 α est un gène majeur, de par son rôle de facteur de transcription, dans la différenciation et le contrôle du métabolisme dans le foie (Hayhurst GP et *al.*, 2001 ; Odom DT et *al.*, 2004). Malgré une présence plus importante de l'ARNm dans la zone péricentrale (Lindros KO et *al.*, 1997), l'expression de la protéine HNF4 α semble homogène dans le lobule hépatique (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011). Toutefois, ce facteur régule certes des gènes dont l'expression est non-zonée, mais aussi l'expression, et donc la distribution zonale, de certains gènes (pour revue, Colnot S and Perret C,

2011). Deux études l'ont clairement mis en évidence. Ainsi, la génération de souris déficientes pour HNF4 α dans le foie a mis en évidence l'expression de certains gènes, normalement péricentraux (notamment la GS), dans la zone périportale (Stanulovic VS et *al.*, 2007). Des études menées dans un modèle d'hépatocytes a permis de mettre en évidence les mécanismes moléculaires de régulation des gènes périportaux et péricentraux par HNF4 α par interférence avec la voie Wnt/ β -caténine (Colletti M et *al.*, 2009). Ces résultats ont permis l'établissement d'un modèle de régulation moléculaire de l'expression des gènes périportaux et péricentraux par la voie Wnt/ β -caténine et HNF4 α (**Figure 12**) (pour revue, Monga SP, 2015). Dans la zone péricentrale (**Figure 12**, droite), la protéine β -caténine activée s'associe aux facteurs de transcription TCF et ce complexe se fixe sur les éléments de réponse de la voie Wnt sur les promoteurs des gènes cibles de cette voie. Ce complexe s'associe aussi sur les éléments de réponse du facteur HNF4 α , inhibant l'induction des gènes cibles de ce dernier. En outre, la protéine β -caténine activée interagit avec le facteur HNF4 α , inhibant sa liaison avec ses éléments de réponse. Ainsi, dans la zone péricentrale, l'expression des gènes cibles de la voie Wnt est induite, tandis que celle des gènes cibles du facteur HNF4 α est inhibée. Dans la zone périportale (**Figure 12**, gauche), le facteur HNF4 α se lie à ses éléments de réponse et induit l'expression de ses gènes cibles, mais se lie aussi aux éléments de réponse de la voie Wnt dont l'expression des gènes est alors inhibée. En outre, HNF4 α s'associe à la protéine β -caténine et au facteur TCF, les empêchant ainsi d'induire l'expression de leurs gènes cibles. Dans la zone périportale, l'expression des gènes cibles du facteur HNF4 α est induite, tandis que celle des gènes cibles de la voie Wnt est inhibée.

Des hypothèses récentes suggèrent une implication des facteurs **Hedgehog (Hh)** dans la zonation hépatique (pour revue, Matz-Soja M et *al.*, 2013). Ces facteurs, au nombre de trois – Sonic (Shh), Indian (Ihh) et Desert (Dhh) hedgehog – jouent, tout comme la voie Wnt/ β -caténine de nombreux rôles au cours de l'embryogénèse et le développement de nombreux tissus (pour revue, Ingham PW et *al.*, 2011), mais aussi dans l'homéostasie des tissus adultes, notamment le foie adulte (pour revue, Matz-Soja M et *al.*, 2013). Les facteurs Hh sont principalement exprimés par les cellules non-parenchymales du foie, dont les cellules stellaires et les cholangiocytes, dans un foie sain et leur expression est fortement augmentée à la fois dans ces cellules, mais aussi dans les hépatocytes, en cas de lésion du foie, notamment en cas d'hépatectomie partielle ou de réparation du foie (Omenetti A et *al.*, 2011). L'hypothèse avancée propose l'existence d'un gradient de Hh opposé à celui de la protéine β -caténine activée, soit une forte expression dans la zone périportale avec un gradient décroissant vers la zone péricentrale, entraînant une inhibition mutuelle des voies de signalisation Hh et Wnt/ β -caténine dans le lobule hépatique (pour revue, Matz-Soja M et *al.*, 2013). Un papier récent mettant en évidence une implication des facteurs de transcription Gli, stabilisés par des signaux de type Hh, dans le contrôle de l'expression de gènes associés à la zonation métabolique hépatique confirme cette hypothèse (Schmidt-Heck W et *al.*, 2015). Toutefois, tout reste à découvrir.

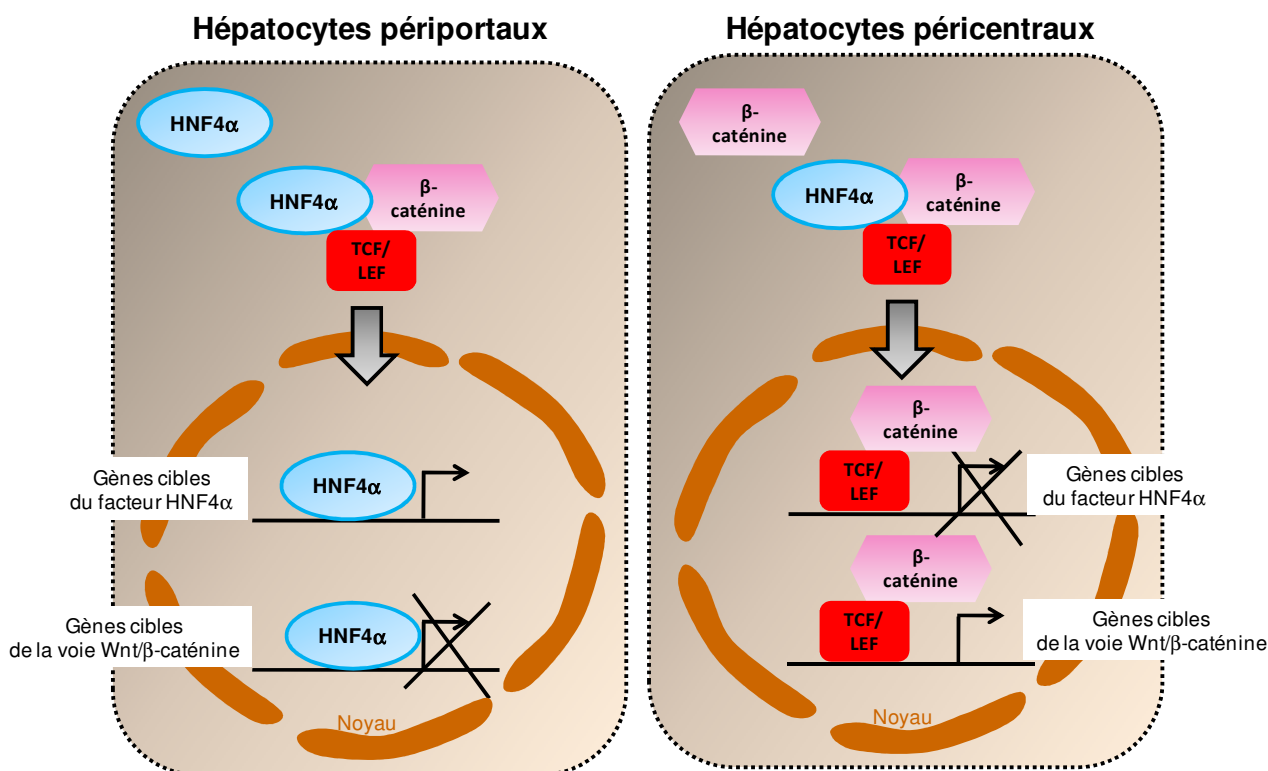


Figure 12. Modèle de régulation moléculaire de l'expression des gènes périportaux et péricentraux par la voie Wnt/ β -caténine et le facteur HNF4 α . Dans la zone périportale (*schéma de gauche*), l'expression des gènes cibles du facteur HNF4 α est induite. L'expression des gènes cibles de la voie Wnt/ β -caténine est inhibée du fait de la fixation du facteur HNF4 α sur les éléments de réponse de la voie Wnt et interaction de la protéine HNF4 α avec la protéine β -caténine. Dans la zone péricentrale (*schéma de droite*), l'expression des gènes cibles de la voie Wnt/ β -caténine est induite par les complexes constitués de la protéine β -caténine activée et des facteurs de transcription TCF. L'expression des gènes cibles du facteur HNF4 α est inhibée après fixation des mêmes complexes sur les éléments de réponse de facteur HNF4 α et interaction de la protéine β -caténine activée avec le facteur HNF4 α , inhibant la liaison de ce dernier avec ses éléments de réponse. D'après Monga SP, 2015.

La voie Wnt/ β -caténine et la régulation du métabolisme dans le foie

Outre ses rôles au cours de l'embryogénèse et du développement largement documentés, il est apparu que la voie Wnt/ β -caténine régule dans le foie, en lien ou pas avec la zonation, plusieurs métabolismes, particulièrement le métabolisme des xénobiotiques et la détoxification de l'ammoniac, mais aussi le métabolisme des acides biliaires (pour revue, Behari J, 2010). Plus récemment, la voie a été impliquée dans la régulation du métabolisme du glucose. Malgré quelques liens dans le tissu adipeux, peu/pas de preuves établissent un lien entre la voie et la régulation du métabolisme des lipides et du cholestérol.

La voie Wnt/ β -caténine régule la détoxification de l'ammoniac et le métabolisme des xénobiotiques

Le rôle de la voie Wnt/ β -caténine dans la régulation de la détoxification de l'ammoniac est directement en lien avec sa fonction dans l'établissement et le maintien de la zonation métabolique hépatique. Cette détoxification se fait par deux systèmes complémentaires qui contribuent à l'élimination de l'ammoniac (Brosnan ME and Brosnan JT, 2009): le cycle de l'urée dans la zone

périportale, notamment grâce à l'enzyme CPSI (dont l'expression est sous le contrôle de la voie Wnt/ β -caténine), et la transformation du glutamate et de l'ammoniac en glutamine dans la zone péricentrale, notamment grâce à l'enzyme GS (dont l'expression est sous le contrôle de la voie Wnt/ β -caténine). Les souris déficientes pour la protéine β -caténine ont un phénotype normal sous une alimentation normale, mais présentent des forts niveaux d'ammoniac dans le sang sous des régimes riches en protéines (Sekine S et *al.*, 2006).

La détoxification des xénobiotiques dépend des nombreuses enzymes de la famille des cytochromes P450 (CYP450) (pour revue, Danielson PB, 2002). Il a été montré, dans un contexte d'induction de tumeurs du foie, que la voie Wnt/ β -caténine régule l'expression de plusieurs protéines CYP (Loepen S et *al.*, 2005), mais aussi la zonation de cette expression (Braeuning A et *al.*, 2009). La voie Wnt/ β -caténine contrôle aussi l'expression de plusieurs membres de la famille des glutathione-S-transferase qui ont des rôles importants dans la détoxification des xénobiotiques (Giera S et *al.*, 2010).

La voie Wnt/ β -caténine et le métabolisme des acides biliaires dans le foie

Plusieurs résultats mettent en évidence ou suggèrent une implication de la voie Wnt/ β -caténine dans la régulation de la sécrétion et l'homéostasie des acides biliaires. Il est connu depuis longtemps que deux enzymes clé de la synthèse des acides biliaires, CYP7A1 et CYP27, présentent une expression péricentrale dans le lobule hépatique, ce qui suggère une régulation par la voie Wnt/ β -caténine (Gebhardt R, 1992). Des mutations ou déficiences de la protéine β -caténine dans le foie humain ou murin entraînent des perturbations du métabolisme des acides biliaires (Audard V et *al.*, 2007 ; Behari J et *al.*, 2010). De même, l'expression d'une forme dominante stable (toujours activée) de la protéine β -caténine dans l'hépatocyte entraîne aussi une choléstase chez la souris (Lemberger UJ et *al.*, 2016). Une autre étude montre que des souris déficientes pour la protéine β -caténine spécifiquement dans le foie présentent une morphologie altérée des canalicules biliaires, ainsi qu'un défaut de sécrétion de la bile, et développent une choléstase intrahépatique (Yeh TH et *al.*, 2010). Trois études associent un défaut de l'homéostasie des acides biliaires et des défauts des jonctions adhérentes entre les cellules dans lesquelles la protéine β -caténine intervient (Amasheh S et *al.*, 2002 ; Théard D, 2007 ; Son S et *al.*, 2009), suggérant qu'un problème d'interactions cellules-cellules entraînent des défauts du métabolisme des acides biliaires. En revanche, l'expression des transporteurs des acides biliaires n'est apparemment pas zonée (Baier PK et *al.*, 2006).

La voie Wnt/ β -caténine régule le métabolisme du glucose dans le foie

Certes, le glucose régule l'activité de la voie Wnt/ β -caténine, mais quelques articles mettent en évidence une régulation du métabolisme du glucose par cette voie. Ainsi, la génération de souris transgéniques spécifiquement dans le foie pour la protéine β -caténine met en évidence une sur-activation de la voie et permet d'identifier plus de 400 gènes dont l'expression est sur- ou sous-activée (Tan X et *al.*, 2005). Parmi ces gènes, celui de la Liver pyruvate kinase (LPK) voit son expression augmenter. Une étude menée par un autre groupe met en évidence une augmentation de l'expression de ce même gène, mais plus globalement de la voie de la glycolyse, dans un modèle de sur-activation de la voie Wnt/ β -caténine dans le foie (Chafey P et *al.*, 2009). Deux études plus récentes suggèrent une augmentation de l'activité de la glycolyse après activation de la voie dans un modèle de cancer du

colon (Pate KT et al., 2014) et dans les neurones corticaux (Cisternas P et al., 2016). Toutefois, les mécanismes mis en jeu ne sont pas identifiés.

La régulation de la néoglucogénèse par la voie Wnt/ β -caténine semble dépendre du contexte d'étude. La suractivation de la voie Wnt/ β -caténine, aussi bien que son activation par un ligand, entraîne une diminution de la néoglucogénèse (Chafey P et al., 2009 ; Ip W et al., 2012). De même, l'activation de la voie par l'insuline, donc dans un contexte post-prandial, est corrélée à une diminution de la néoglucogénèse (Ip W et al., 2012). A l'inverse, une autre étude met en évidence que, dans le foie dans un contexte de jeûne, la protéine β -caténine interagit moins avec les facteurs de transcription de la famille TCF et plus avec le facteur FoxO1, ce qui entraîne une augmentation du niveau de la néoglucogénèse (Liu H, et al., 2011).

La voie Wnt/ β -caténine et les récepteurs nucléaires

Interférence entre les récepteurs nucléaires et la voie canonique Wnt/ β -caténine

Des interactions moléculaires et fonctionnelles ont été décrites entre la voie canonique Wnt/ β -caténine et plusieurs membres de la superfamille des récepteurs nucléaires (pour revue, Mulholland DJ, End Rev, 2005). Ces interactions sont de deux types et réciproques : une modulation de l'activité des récepteurs nucléaires par la voie Wnt/ β -caténine et une inhibition de l'activité de cette voie par les récepteurs nucléaires. Ainsi, des études ont montré des interactions entre la voie Wnt/ β -caténine et différents récepteurs tels que les récepteurs AR (androgen receptor), RAR (retinoic acid receptor), VDR (vitamin D receptor), GR (glucocorticoid receptor), TR (progesterone receptor, thyroid X receptor), ER (estrogen receptor) et PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor) (pour revue, Mulholland DJ et al., 2005). D'autres études mettent en évidence une interaction de cette voie avec les LXRs (Liver X receptor) dans le contrôle de l'adipogénèse (Ross SE et al., 2002 ; Matsushita K et al., 2016).

J'ai choisi, dans les paragraphes suivants, de détailler l'interaction moléculaire et fonctionnelle entre la voie Wnt/ β -caténine et le récepteur PPAR γ dans le contrôle de l'adipogénèse, dans la mesure où c'est l'une des plus détaillée dans la littérature, et avec le récepteur FXR dans différents organes, dans la mesure où c'est cette interaction qui nous intéresse dans notre étude.

Interférence entre le récepteur PPAR γ et la voie canonique Wnt/ β -caténine dans l'adipogénèse

Le récepteur nucléaire PPAR γ est un acteur clé de l'adipogénèse (Tontonoz P et al., 1994 ; pour revue, Shao X et al., 2016). La voie canonique Wnt/ β -caténine est un régulateur négatif de l'engagement des cellules mésenchymales dans la lignée adipocytaire, mais aussi de l'adipogénèse proprement dite, soit la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures (pour revue, Tang QQ and Lane MD, 2012). Des interactions fonctionnelles et moléculaires ont été mis en évidence entre ces deux acteurs au cours de l'adipogénèse (pour revue, Farmer SR, 2005). La première étude a mis en évidence une régulation réciproque entre ces deux voies, l'activation de PPAR γ entraînant la dégradation de la protéine β -caténine, inhibant ainsi la voie, et l'activation de la voie Wnt/ β -caténine, une inhibition de l'induction de l'expression du récepteur PPAR γ (Moldes M et al., 2003). Les mécanismes moléculaires ont ensuite été mis en évidence. L'activation de PPAR γ entraîne une dégradation de la protéine β -caténine par activation de la kinase GSK-3, appartenant au complexe de dégradation de la

protéine β -caténine (Liu J & Farmer SR, 2004). En outre, une interaction physique entre les protéines PPAR γ et β -caténine a été mise en évidence (Liu J et al., 2006).

Interférence entre le récepteur FXR et la voie canonique Wnt/ β -caténine

Plusieurs études mettent en évidence une interaction fonctionnelle entre le récepteur nucléaire FXR et la voie canonique Wnt/ β -caténine. Trois études indépendantes mettent en évidence une sur-activation de la voie canonique Wnt/ β -caténine dans un contexte de déficience en FXR, dans un contexte de cancer de l'intestin (Modica S et al., 2008) et du foie (Wolfe A et al., 2011), mais aussi dans le contexte de l'adipogénèse (Abdelkarim M et al., 2010). Dans ce dernier contexte, nous avons montré que des fibroblastes embryonnaires de souris (cellules MEF) issus de souris déficientes pour FXR se différenciaient moins bien en adipocytes *in vitro*, sans qu'une différenciation complète puisse être récupérée après l'activation de PPAR γ . Cette moindre différenciation s'associe à une diminution de la lipogénèse et du stockage de triglycérides, ainsi qu'une augmentation de la lipolyse, et peut être rétablie après ré-expression de FXR. Ce phénotype est corrélé à une sur-activation de la voie Wnt/ β -caténine, comme en témoigne la sur-expression des gènes cible de cette voie. Un article récent met en évidence les mécanismes moléculaires d'interférence de FXR sur l'activité de la voie Wnt/ β -caténine dans l'hépatocyte (Liu X et al., 2015). Les auteurs ont montré une interaction fonctionnelle entre le récepteur FXR et la protéine β -caténine, ce qui inhibe l'interaction de cette dernière avec le facteur de transcription TCF4 et la fixation sur le promoteur des gènes cibles de la voie. En outre, deux études mettent en évidence une corrélation inverse entre l'expression des protéines β -caténine et FXR (Liu X et al., 2015 ; Lemberger UJ et al., 2016), suggérant une interaction moléculaire réciproque.

Toutefois, les mécanismes moléculaires d'interférence de la voie Wnt/ β -caténine avec l'activité de FXR, ainsi que l'impact de cette interférence sur la fonction de FXR dans le foie et sur la zonation hépatique ne sont pas décrits.

La voie Wnt/ β -caténine, la zonation métabolique et les maladies métaboliques du foie

De part son implication dans la régulation de la prolifération, une dérégulation de l'activité de la voie Wnt/ β -caténine a été impliquée dans le développement de nombreux cancers dans différents tissus, dont le foie, ce qui est largement documenté dans la littérature (pour revue, Zhan T et al., 2016). Une dérégulation de cette voie est en outre impliquée dans le développement de maladies neurodégénératives (pour revue, Libro R et al., 2016) et de fibroses dans plusieurs tissus (pour revue, Dees C and Distler JH, 2013). Malgré ces connaissances et les recherches, ce n'est que récemment que les premières molécules ciblant la voie Wnt/ β -caténine sont entrées en phase d'essai clinique et pour l'instant, aucune molécule n'a été approuvée (pour revue, Kahn M, 2014).

Plus récemment, des articles mettent en évidence une implication de la voie Wnt/ β -caténine dans le développement de désordres métaboliques, notamment au niveau du foie. En outre, il est intéressant de noter que les premiers liens entre cette voie et la zonation métabolique hépatique ont été établis grâce à l'observation du phénotype des carcinomes du foie dans lesquels une mutation de la voie Wnt/ β -caténine avait été identifiée (de la Coste A et al., 1998 ; Hailfinger S et al., 2006).

La voie canonique Wnt/ β -caténine et le développement des maladies métaboliques

Plusieurs types d'études établissent un lien entre la voie canonique Wnt/ β -caténine et le développement de désordres métaboliques. Ces études ont ainsi permis de mettre en évidence une implication de la voie Wnt/ β -caténine dans le contrôle de différentes voies métaboliques dans différents organes.

Parmi les études les plus marquantes, Grant SF et *al.* ont montré que certains polymorphismes du gène *TCF7L2*, un des facteurs de transcription activés par la voie Wnt/ β -caténine, prédisposent au développement d'un diabète de type 2 (Grant SF et *al.*, 2006). Plusieurs études sont venues confirmer ces premières données (pour revue, Lyssenko V et *al.*, 2015). D'autres études montrent une implication de polymorphismes de LRP6, co-récepteur de la voie Wnt, dans le développement de désordres métaboliques, notamment l'hyperlipidémie, l'athérosclérose et la stéatose du foie chez l'homme (Mani A et *al.*, 2007) et la souris (Go GW et *al.*, 2014). Les désordres métaboliques engendrés par cette mutation sont normalisés après administration de Wnt3A, activateur de la voie Wnt/ β -caténine, chez la souris (Go GW et *al.*, 2014).

La voie canonique Wnt/ β -caténine et le développement des maladies du foie

Un certain nombre d'études commencent à établir des liens entre des dérégulations de la voie Wnt/ β -caténine et le développement des maladies du foie de type stéatose (Nonalcoholic Fatty Liver Disease/ Nonalcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH)) et de type fibrose (pour revue, Monga SP, 2015). Des données mettent en évidence une stéatose plutôt d'origine péricentrale chez l'homme, avec une augmentation de la lipogénèse dans cette zone, tandis que les origines chez les modèles de rongeurs pourraient être diverses (pour revue, Hijmans BS et *al.*, 2013). Les données les plus convaincantes établissant un lien direct entre la voie Wnt/ β -caténine et le développement de stéatose hépatique sont celles portant sur les polymorphismes du co-récepteur LRP6 de la voie (Mani A et *al.*, 2007 ; Go GW et *al.*, 2014). Toutefois, du fait de l'implication de la voie Wnt/ β -caténine dans l'établissement/maintien de la zonation, il est fort probable que les études associant une perturbation de cette voie avec le développement du NAFLD/NASH vont se multiplier dans les années à venir.

La fibrose hépatique, initialement un mécanisme de défense de l'organe à une lésion, conduit à un dépôt massif de matrice extracellulaire et à un dysfonctionnement du foie. Les cellules stellaires sont la source principale de protéines de la matrice extracellulaire. Quelques études mettent en évidence une augmentation de l'expression des composants de la voie Wnt lors du développement de la fibrose, notamment dans le foie (Shackel NA et *al.*, 2001 ; Tanaka A et *al.*, 2001). Certaines études montrent une expression aberrante de Wnt5A dans des foies fibrotiques de rongeurs (Jiang F et *al.*, 2006 ; Rashid ST et *al.*, 2012 ; Xiong WJ et *al.*, 2012). Toutefois, comme l'action de ce Wnt sur la voie Wnt/ β -caténine est différente suivant le contexte, il est difficile de définir si cette expression est corrélée à une activation ou à une inhibition de la voie Wnt/ β -caténine ou à un événement indépendant de cette voie. Une autre étude dans des cellules stellaires de rat montre que l'activation de la voie Wnt/ β -caténine permettrait leur maintien en quiescence, ce qui suggère que c'est plutôt une inhibition de cette voie qui entrainerait une activation des cellules et donc le processus fibrotique (Kordes C et *al.*, 2008). D'autres études, au contraire, mettent en évidence plutôt une activation de la voie Wnt/ β -caténine dans l'activation des cellules stellaires (Myung SJ et *al.*, 2007 ; Cheng JH et *al.*, 2008 ; Ge WS et *al.*, 2014). Les résultats sont donc pour l'instant peu clairs et même contradictoires.

La voie canonique Wnt/ β -caténine établit un lien entre la zonation métabolique hépatique et le développement des maladies métaboliques

Il est intéressant de noter que certains polymorphismes du co-récepteur LRP6 de la voie Wnt entraîne le développement d'une stéatose du foie, mais aussi de désordres métaboliques, dont une hyperlipidémie et une athérosclérose (Mani A *et al.*, 2007 ; Go GW *et al.*, 2014). Chez la souris, une modification du poids et une perturbation de l'homéostasie glucidique et de la sensibilité à l'insuline sont aussi associés à ces polymorphismes (Liu W *et al.*, 2012). La voie Wnt/ β -caténine permet un lien direct entre ces désordres métaboliques et des pathologies du foie. D'autres études établissent un lien entre une perturbation de la zonation métabolique hépatique – et donc peut-être de la voie Wnt/ β -caténine - avec des perturbations métaboliques. Ainsi, la voie Wnt/ β -caténine, et notamment la protéine β -caténine, dans le foie semble indispensable au développement de désordres métaboliques systémiques. Ainsi, les souris déficientes spécifiquement dans le foie pour la protéine β -caténine sont résistantes au développement d'un foie gras et à l'obésité induite par un régime riche en graisses (Behari J *et al.*, 2014). De même, l'utilisation d'oligonucléotides anti-sens de la protéine β -caténine protège les souris du développement d'une stéatose hépatique et d'une résistance à l'insuline hépatique et systémique (Popov VB *et al.*, 2016). Une étude plus récente met en évidence une perturbation de la zonation dans le foie d'intermédiaires de la voie de l'insuline, les protéines Insulin Receptor Substrates (Irs1/2) et le développement d'une résistance systémique à l'insuline associée à l'obésité et au diabète (Kubota N *et al.*, 2016). Ces études sont probablement les premières représentantes d'études associant la voie Wnt/ β -caténine et/ou la zonation métaboliques hépatiques et le développement de désordres métaboliques systémiques.

La question scientifique

L'objectif de ce projet est d'étudier **l'interaction moléculaire et fonctionnelle entre le récepteur nucléaire FXR et la voie Wnt/ β -caténine dans le contrôle du métabolisme dans le foie**. Ce projet sera réalisé à l'aide de **modèles cellulaires**, la lignée d'hépatocytes humains immortalisés IHH et des hépatocytes primaires de souris, et de **modèles pré-cliniques murins** et sera développé par trois approches complémentaires :

Sous-objectif 1 – Etude des mécanismes moléculaires mis en jeu dans l'interférence de la voie canonique Wnt/ β -caténine sur l'activité du récepteur FXR.

Sous-objectif 2 – Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine dans le foie zoné de souris

Sous-objectif 3 – Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine *in vivo*.

Le programme de recherche

Ce projet sera mené à bien en s'intéressant à 3 aspects organisés en 3 sous-objectifs ; les 2 premiers sont menés en parallèle et les conditions de réalisation du 3^{ème} dépendront des résultats obtenus dans les 2 premiers objectifs. Ces 3 sous-objectifs sont complémentaires, d'un point de vue scientifique et

technique. Le 1^{er} sous-objectif consiste à utiliser des lignées cellulaires et cellules primaires pour identifier les conditions et mécanismes moléculaires de la voie Wnt/ β -caténine et du récepteur nucléaire FXR. Le 2^{ème} sous-objectif consiste à étudier l'interaction fonctionnelle de l'interférence de la voie Wnt/ β -caténine et de FXR dans la zonation du foie chez la souris. Le 3^{ème} objectif consistera à étudier l'interaction fonctionnelle de l'interférence de la voie Wnt/ β -caténine et de FXR *in vivo*, dans un contexte physio- et/ou pathologique.

Sous-objectif 1 – Etude des mécanismes moléculaires mis en jeu dans l'interférence de la voie canonique Wnt/ β -caténine avec l'activité du récepteur FXR.

Cette étude sera menée dans la lignée d'hépatocytes humains IHH et dans les hépatocytes primaires de souris et organisée en trois tâches :

Impact de la modulation de la voie Wnt/ β -caténine sur l'expression et l'activité de FXR.

Afin de montrer que la sur-activation de gènes cibles de FXR après l'activation de la voie Wnt/ β -caténine est bien dépendante de FXR, les cellules IHH seront transfectées avec un pool d'ARN interférant spécifiques du gène FXR et co-traitées avec des activateurs de FXR et de la voie Wnt/ β -caténine. Cette dépendance pourra être vérifiée dans des hépatocytes primaires de souris déficients pour FXR. L'expression de l'ARNm et de la protéine FXR sera mesurée dans les cellules IHH et les hépatocytes primaires après modulation de l'activité de la voie Wnt/ β -caténine. Enfin, des expériences de transfections transitoires de l'élément de réponse de FXR en amont du gène rapporteur luciférase dans les cellules IHH permettront d'étudier la régulation de l'activité transcriptionnelle de FXR après modulation de l'activité de la voie Wnt/ β -caténine.

Impact de la modulation de la voie Wnt/ β -caténine sur les interactions protéiques et la localisation subcellulaire de FXR.

Des résultats préliminaires obtenus dans les cellules IHH suggèrent que les protéines FXR et β -caténine sont dans le même complexe protéique (Marino A, Caron S, *Données non-publiées*). D'autres expériences de co-immunoprécipitation seront menées afin de déterminer si ces deux protéines sont dans le même complexe après activation de FXR et/ou de la voie Wnt. La présence, dans ce complexe, d'autres protéines susceptibles d'interagir avec les protéines FXR et/ou β -caténine sera testée. L'utilisation de mutants de la protéine FXR seront utilisés dans des expériences de GST pull-down *in vitro* afin de déterminer la/les domaines de la protéine impliquée(s) dans cette interaction. Enfin, la localisation sub-cellulaire des protéines FXR et β -caténine sera étudiée par des techniques de Western blot après fractionnement cytoplasme/noyau de cellules IHH traitées par des modulateurs de l'activité de FXR et/ou de la voie Wnt.

Impact de la modulation de la voie Wnt/ β -caténine sur la régulation par FXR de ses gènes cibles.

L'utilisation de la technique d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) sera utilisée dans les cellules IHH, après modulation de FXR et/ou de la voie Wnt/ β -caténine, afin de déterminer *in vivo* la présence ou l'absence de la protéine FXR sur le promoteur de ses gènes cibles, ainsi que celle des facteurs TCF/LEF activés par la voie Wnt. La présence de co-activateurs/inhibiteurs classiquement associés au facteur FXR et TCF/LEF sera testée.

Sous-objectif 2 – Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine dans le foie zoné de souris

Ce deuxième sous-objectif a pour but de déterminer si l'interférence de la voie Wnt/ β -caténine avec l'activité de FXR pourrait entraîner une zonation des activités de FXR et/ou une modulation de celle des fonctions métaboliques du foie. Cette étude sera principalement réalisée dans des populations d'hépatocytes primaires de souris périportaux et péricentraux et sera organisée en trois tâches :

Etude de la zonation de l'expression de FXR et de ses gènes cibles dans le foie de souris.

L'étude de la zonation de l'expression de gènes sera réalisée à l'aide de populations d'hépatocytes primaires de souris sauvages et déficientes pour FXR enrichies en hépatocytes péricentraux et périportaux selon la technique de perfusion digitonine-collagénase initialement décrite chez le rat (Gebhardt R, 1988) et transférée à la souris par le laboratoire M Schwartz (Allemagne) (Braeuning A et al., 2006). Dans ces deux types de populations, seront étudiées l'expression de l'ARNm et de la protéine FXR et l'expression (ARNm) des gènes cibles de FXR, ainsi que l'expression des effecteurs et gènes cibles de la voie Wnt/ β -caténine. Ces hépatocytes seront aussi remis en culture et co-traités par des modulateurs de FXR et de la voie Wnt/ β -caténine afin d'étudier l'interférence entre ces deux voies. En parallèle, des coupes de foie de souris sauvages et déficientes pour FXR permettront l'étude de l'expression des mêmes gènes par des techniques d'immunohistochimie et immunofluorescence.

Etude de la zonation des métabolismes dans le foie de souris sauvages et déficientes pour FXR.

Sur les mêmes populations d'hépatocytes péricentraux ou périportaux que précédemment isolés de souris sauvages et déficientes pour FXR et juste après l'isolement, l'expression de gènes clés des différentes voies métaboliques (glycolyse, néoglucogenèse,) seront mesurée afin de déterminer si la déficience en FXR a un impact sur leur zonation. Ces populations seront aussi mises en culture et soumises à différents stimuli afin de mimer des transitions métaboliques (principalement transitions jeûne-réalimentation en sucres et alimentation-jeûne prolongé) avant d'être co-traités par des modulateurs de FXR et de la voie Wnt/ β -caténine. De même, des coupes de foie de souris sauvages et déficientes pour FXR, éventuellement soumises à une transition nutritionnelle, permettront l'étude de l'expression des mêmes gènes par des techniques d'immunohistochimie et immunofluorescence.

Identification de gènes différentiellement exprimés dans les hépatocytes péricentraux et périportaux de foie de souris sauvages et déficientes pour FXR.

Les gènes différentiellement exprimés dans des populations d'hépatocytes périportaux et péricentraux issus de souris sauvages ou déficientes pour FXR seront identifiés à l'aide de puces à ADN. En fonction des résultats obtenus précédemment, cette identification sera réalisée sur ces populations juste après isolement ou après remise en culture et traitement par des activateurs de FXR et/ou de la voie Wnt/ β -caténine, et éventuellement au cours d'une transition nutritionnelle.

Sous-objectif 3 – Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine *in vivo*.

Ce troisième sous-objectif sera réalisé à l'aide de modèles de souris sauvages et déficientes pour FXR à l'état basal ou après induction d'une pathologie du foie et sera organisé en deux tâches :

Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine in vivo.

Des souris sauvages et totalement déficientes pour FXR seront co-traitées par un agoniste FXR et un activateur de la voie Wnt/ β -caténine. Ces souris seront caractérisées au niveau métabolique (poids, glycémie, insulinémie, ...) et l'expression de FXR, de ses gènes cibles et des effecteurs et gènes cibles de la voie Wnt/ β -caténine sera mesurée dans le foie, mais aussi dans les autres organes métaboliques. La réalisation de coupes du foie de ces souris et de microdissection laser permettront l'étude de l'expression des respectivement protéines et des ARN FXR, β -caténine et de leurs gènes cibles spécifiquement dans les hépatocytes péricentraux et périportaux. En fonction des résultats, le même type d'expérience pourra être réalisé dans des souris déficientes pour FXR spécifiquement dans le foie (Prawitt J et al, 2011).

Etude de l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine in vivo dans un contexte pathologique.

Les mêmes types d'expériences que précédemment pourront être réalisés dans les modèles murins et avec les mêmes activateurs, mais après induction de la stéatose (régime MCDD) et/ou de la fibrose (régime CCL4) hépatique. La voie Wnt/ β -caténine de part son rôle dans l'hépatocyte pour la stéatose, mais aussi de part son rôle dans les cellules stellate pour la fibrose, est liée au développement de ces deux pathologies du foie. Le choix d'un ou de ces deux régimes dépendront des résultats obtenus dans les deux premiers sous-objectifs.

Conclusion / Discussion / Perspectives

Conclusions/Discussion - Les deux premiers sous-objectifs de ce projet ont commencé à être développer. Nous avons ainsi collecté un certain nombre de résultats sur l'interférence des voies FXR et Wnt/ β -caténine dans le modèle humain d'hépatocytes IHH (**Sous-objectif 1**). Nos résultats mettent ainsi en évidence une régulation négative réciproque de ces deux voies (Dziwosz T, Caron S, *données non-publiées*), ce qui corrobore des données disponibles dans la littérature (Cf **Partie III.2 ; 3.2 ; Contexte scientifique**). En parallèle, un des défis du projet est de développer des modèles permettant l'étude de l'interaction fonctionnelle de FXR et de la voie Wnt/ β -caténine dans la zonation métabolique hépatique (**Sous-objectif 2**). Nous avons ainsi prévu de réaliser cette étude en isolant des populations d'hépatocytes primaires de souris enrichies en hépatocytes périportaux et péricentraux. Initialement, cet enrichissement devait être réalisé en utilisant la technique d'isolement par la double perfusion digitonine-collagénase (Braeuning A et al., 2006). Il s'est avéré que cette technique est empirique et peu reproductible. Nous avons pu réaliser cet enrichissement, toujours à partir d'une population d'hépatocytes primaires de souris, mais en identifiant les deux types d'hépatocytes à l'aide de marqueurs spécifiques – périportaux/péricentraux – et isolement de ces cellules par la technique de cytométrie en flux couplée à un trieur (Plate-forme d'Immunophénotypage Métabolique de l'Unité). Nos premiers résultats obtenus pour des hépatocytes de souris sauvages montrent un enrichissement significatif et reproductible, comme l'atteste l'étude de l'expression des marqueurs périportaux/péricentraux dans ces populations (Dziwosz T, Caron S, *données non-publiées*). Les tests d'enrichissement sont actuellement en cours de développement à

partir de populations d'hépatocytes de souris FXR^{-/-}. Toutefois, les premiers résultats de marquage des hépatocytes de ces souris mettent en évidence une augmentation du nombre d'hépatocytes exprimant indépendamment des marqueurs périportaux et des marqueurs péricentraux (Dziwosz T, Caron S, *données non-publiées*), suggérant une modification nette de la zonation, au du moins de la répartition des populations périportales/péricentrales, dans le foie des souris FXR^{-/-}. En parallèle, nous avons tenté de favoriser le phénotype périportal ou péricentral dans une population d'hépatocytes IHH (qui ne semblent, dans la population globale, n'avoir aucun « phénotype » dominant, périportal ou péricentral) en agissant sur le voie Wnt/β-caténine, soit en l'inhibant pour favoriser un phénotype périportal et en l'activant à l'inverse, pour favoriser un phénotype péricentral. Bien que discutable, puisqu'il s'agit de favoriser un phénotype en agissant uniquement au niveau moléculaire, les premiers résultats mettent en évidence un enrichissement, net pour la population périportale et à affiner pour la population péricentrale (Dziwosz T, Caron S, *données non-publiées*).

Perspectives – La suite du projet va consister à consolider, affiner et compléter nos modèles permettant l'étude de la zonation métabolique hépatique. Ainsi, notre objectif est d'avoir à disposition des populations d'hépatocytes primaires de souris sauvages et FXR^{-/-} enrichies en hépatocytes périportaux/péricentraux pour y étudier par PCR en temps réel, et très rapidement en réalisant des puces ADN Affymétrie, l'expression et l'activité des voies FXR et Wnt/β-caténine, afin de mettre en évidence le rôle de FXR dans le maintien de la zonation métabolique hépatique. Ces études seront complétées par des expériences d'immunomarquages de protéines zonées (liées aux fonctions de FXR et de la voie Wnt/β-caténine, mais aussi impliquées dans la régulation du métabolisme) réalisées sur des coupes de foie de souris sauvages et FXR^{-/-} (Plateforme d'Histologie de notre Unité). En outre, une fois identifiés par ces expériences d'immunomarquages, les hépatocytes périportaux et péricentraux pourront être collectés par microdissection laser. Des études d'expression de gènes pourront être réalisées dans ces hépatocytes, résultats qui pourront confirmer, affiner les résultats obtenus sur les populations enrichies isolées par la cytométrie en flux couplée au trieur.

La possibilité d'utiliser la lignée d'hépatocytes humains IHH pour obtenir des populations d'hépatocytes enrichies en hépatocytes périportaux/péricentraux est très attractive car elle permettrait de réaliser des études moléculaires. Toutefois, elle présente la limite que l'enrichissement n'est lié qu'à une modification de l'activité de la voie Wnt/β-caténine et ne prend pas en compte les gradients de nutriments et d'oxygène qui ont été montrés intervenir, en plus des acteurs moléculaires, dans l'établissement et le maintien de la zonation métabolique hépatique (pour revue, Colnot S and Perret C, 2011). Une alternative est de re-crée artificiellement ce contexte en utilisant des systèmes de microfluidique biologique développés dans le cadre de la biologie cellulaire. Ainsi, ces systèmes sont évoqués dans le contexte de l'étude de la zonation métabolique dans plusieurs publications, notamment s'intéressant à l'importance du gradient d'oxygène dans la zonation (Kietzmann T, et *al.*, 2017 ; Soto-Gutierrez A et *al.*, 2017 ; Gilgioni EH et *al.*, 2018). Nous pourrions développer cette technique en collaboration avec Marc Lefranc (laboratoire PhLam, Cité Scientifique, Université de Lille) qui développe ce type de système et avec qui l'Unité a déjà une collaboration dans le cadre d'autres projets (projets de Hélène Duez).

Pour nous démarquer des données déjà disponibles dans la littérature, nous envisageons de poursuivre l'étude de l'interférence moléculaire entre les voies FXR et Wnt/β-caténine dans des populations d'hépatocytes IHH enrichies en hépatocytes périportaux/péricentraux dans un contexte de transitions

nutritionnelles. FXR intervient dans la régulation du métabolisme du glucose, à la fois pour son utilisation (glycolyse) et sa production de novo (néoglucogenèse) (Pour revue, Lefebvre P et *al.*, 2009 ; Mazuy C et *al.*, 2015). Il est à noter que FXR est décrit pour réguler la néoglucogenèse de façon à la fois positive et négative (Duran-Sandoval D et *al.*, 2005b), ce qui semble contradictoire, sauf si ces régulations n'ont pas lieu dans les mêmes hépatocytes dans le foie... En outre, la voie Wnt/ β -caténine régule aussi la glycolyse (Cf **Partie III.2 ; 3.2 ; Contexte scientifique**), voie métabolique principalement active au niveau de la zone péricentrale, où justement cette voie est la plus active. Notre objectif est d'utiliser les populations IHH enrichies en hépatocytes périportaux/péricentraux pour étudier l'implication de FXR et/ou de la voie Wnt/ β -caténine et/ou de l'implication du couple FXR-voie Wnt/ β -caténine dans la régulation des voies métaboliques, principalement celles du glucose, fonctionnant dans les différents type d'hépatocytes.

Enfin, nous étudierons l'interaction fonctionnelle entre FXR et la voie Wnt/ β -caténine *in vivo*, chez des souris sauvages, FXR^{-/-} et déficientes pour FXR spécifiquement dans le foie (Prawitt J et *al.*, 2011) après activation de FXR et/ou de la voie Wnt/ β -caténine. Ces études seront menées dans un premier temps au cours de transitions nutritionnelles (mimant une phase post-prandiale ou un jeûne) et suivant les résultats dans un contexte pathologique (avec induction d'une stéatose ou fibrose hépatique).

V. Conclusions, perspectives

En cas de maladies métaboliques, notamment de diabète de type 2 ou d'obésité, le pool des acides biliaires, notamment en terme de composition, est perturbé (Pour revue, Prawitt J et *al.*, 2014). Les séquestrants des acides biliaires utilisés en clinique depuis une vingtaine d'années, initialement pour réduire les taux de cholestérol, entraînent aussi une amélioration des métabolismes lipidique et glucidique chez les patients diabétiques (pour revue, Kuipers F et *al.*, 2014). Leur mode d'action passe, notamment, par une modification de la composition du pool d'acides biliaires, probablement entraînant une modification de l'activité de FXR dans plusieurs organes (pour revue, Prawitt J et *al.*, 2014). Chez des patients obèses, la chirurgie bariatrique entraîne aussi une modification du pool des acides biliaires (Pour revue, Frikke-Schmidt H et *al.*, 2016). Cette modification du pool des acides biliaires entraînerait une modification de l'activité de FXR dans plusieurs organes métaboliques. Ainsi, des souris déficientes pour FXR perdent cet effet. Il est proposé qu'une partie de l'action soit médié par FXR exprimé dans l'adipocyte, la modification du pool des acides biliaires contribuant à l'amélioration de la fonction de ces cellules (Pour revue, Frikke-Schmidt H et *al.*, 2016). Enfin, bien qu'arrêté pour l'instant, les résultats de l'essai clinique de phase II utilisant l'OCA mettent en avant l'intérêt d'agir sur l'activité de FXR dans l'amélioration de l'homéostasie métabolique chez les patients souffrant de diabète de type 2 et de maladies du foie gras (Mudaliar S et *al.*, 2013 ; Neuschwander-Tetri BA et *al.*, 2015). Ainsi, l'ensemble de ces résultats et observations soulignent l'importance de mieux comprendre les fonctions et les modes d'action du récepteur nucléaire FXR dans les différents organes métaboliques où il est exprimé.

Parmi l'ensemble des organes métaboliques, le tissu adipeux blanc n'est pas celui qui exprime le plus le récepteur nucléaire FXR. Son expression reste parfois même controversée dans la littérature et l'étude de ses fonctions dans cet organe, assez limitée. Pourtant, ce récepteur est exprimé dans le tissu adipeux blanc des souris et son expression est régulable (Cariou B et *al.*, 2006 ; Rizzo G et *al.*, 2006). En outre, une diminution de la sensibilité à l'insuline au niveau du tissu adipeux blanc est mise en évidence chez des souris déficientes pour FXR (Cariou B et *al.*, 2006). Enfin, des souris déficientes pour ce récepteur au niveau du tissu adipeux blanc (souris Ad-FXR-KO) présentent une amélioration de leur tolérance au glucose, et plus spécifiquement au niveau du tissu adipeux blanc une diminution de l'inflammation, composante chronique de l'obésité (Marino A, Caron S, *Données non-publiées*). Des résultats obtenus avec des adipocytes différenciés *in vitro* confirment que FXR exprimé dans l'adipocyte contribue directement à une régulation de l'inflammation puisque des adipocytes déficients pour ce récepteur montrent une réponse diminuée à des stimuli pro-inflammatoires (Marino A, Caron S, *Données non-publiées*). Cela n'exclut pas l'intervention de cellules immunes, de type lymphocytes T et macrophages, décrites pour intervenir dans ce type de processus dans le tissu adipeux blanc (Pour revue, Bastard JP & Fève B, 2013 (Chapitre 20)), dans la régulation des processus de régulation de l'inflammation dans le tissu adipeux blanc des souris Ad-FXR-KO mises sous régime riche en graisses. Il serait intéressant dans ce contexte d'étudier leur implication, mais aussi les communications existantes entre ces cellules immunes et les adipocytes. L'étude de l'inflammation dans ces souris au niveau d'autres dépôts de tissus adipeux est indispensable puisqu'il est décrit que les mécanismes mis en jeu dans les différents dépôts, notamment le dépôt sous-cutané *versus* les dépôts viscéraux (dont épipidymal) ne sont pas les mêmes dans un contexte d'obésité. Une des questions qui restent en suspens est de savoir quels peuvent être les ligands naturels du récepteur FXR dans le tissu adipeux blanc. Même s'il n'est pas totalement exclu que les acides biliaires puissent

rentrer dans les adipocytes, les niveaux circulants de ces molécules sont à priori très faibles notamment aux niveau des dépôts de type épидидymal et sous-cutané, mais rien n'est prouvé dans la littérature. Des dosages de ces molécules ont été effectués dans notre Unité sur des dépôts épидидymaux de souris sauvages sous régime riche en graisses et mettent en évidence des niveaux bas, mais détectables (Muhr-Tailleux A, Caron S, *Données non-publiées*). Il resterait à déterminer si des transporteurs des acides biliaires sont exprimés et fonctionnels au niveau des adipocytes. En revanche, il est possible d'imaginer que les niveaux d'acides biliaires soient assez élevés à proximité du tissu adipeux blanc mésentérique, le tissu adipeux considéré comme le « vrai » tissu adipeux viscéral dans la littérature. En effet, ce dépôt est associé à l'intestin et à proximité immédiate du foie et constitue ainsi un tissu du circuit entéro-hépatique. Malheureusement, ce tissu adipeux est difficile à prélever chez la souris et est uniquement prélevable chez des souris placées sous un régime riche en graisses, ce qui limite pour l'instant son étude.

En revanche, dans le foie, l'expression du récepteur nucléaire FXR n'est plus à montrer et beaucoup de ses fonctions sont largement décrites (pour revues, Lefebvre P et *al.*, 2009 ; Mazuy C et *al.*, 2015). Toutefois, très peu de liens ont été faits entre ce récepteur et l'existence dans le foie d'une zonation métabolique. Plusieurs études mettent en évidence une interférence entre FXR et l'acteur moléculaire considéré actuellement comme majeur dans l'établissement et le maintien de la zonation métabolique hépatique, la voie Wnt/ β -caténine (Cf **Partie III.2 ; 3.2 ; Contexte scientifique**). Apparemment, la protéine FXR elle-même ne serait pas zonée, mais la technique utilisée pour le montrer est très critiquable (Baier PK et *al.*, 2006). Un papier récent ne met pas en évidence de zonation de son ARN (Halpern KB et *al.*, 2017). L'expression de certains de ces gènes cibles semblent être zonée en revanche (Baier PK et *al.*, 2006). Il est même peut-être cohérent, par rapport à ses rôles connus, que l'expression (ARN/protéine) du récepteur FXR lui-même ne soit pas zonée puisqu'il régule différentes fonctions métaboliques, certaines étant plutôt assurées par les hépatocytes périportaux (par exemple, la néoglucogénèse) et d'autres plutôt assurées par les hépatocytes péricentraux (par exemple, la glycolyse). Il est de ce fait plutôt envisageable que cela soit l'activité de FXR qui soit zonée et non son expression. Cette activité pourrait être zonée du fait de la zonation de l'expression de ses partenaires protéiques et/ou d'enzymes assurant des modifications post-traductionnelles qui modifieraient son activité de façon différente. Toutefois, peu de données sont actuellement disponibles dans la littérature pour déterminer comment cette activité pourrait être régulée. Il est intéressant de noter que la synthèse des acides biliaires, ligands naturels de FXR, se ferait plutôt dans la zone péricentrale (Gebhardt R & Matz-Soja M, 2014), tandis que les acides biliaires réabsorbés reviennent dans le foie par la veine porte, donc arrivent au niveau de la zone portale (pour revue, Mazuy C et *al.*, 2015). Toutefois, un papier récent met plutôt en évidence la localisation des enzymes impliquées séquentiellement dans la synthèse des acides biliaires comme s'étalant de la zone périportale vers la zone péricentrale (Halpern KB et *al.*, 2017). Cette disparité de localisation des acides biliaires néo-synthétisés et réabsorbés pourrait impacter l'activité de la FXR dans les différentes zones. Ainsi, des souris déficientes pour FXR présentent une accumulation de lipides et une augmentation de l'expression de gènes cibles de FXR spécifiquement dans la zone périportale après un traitement avec du colesevelam, un séquestrant des acides biliaires (Herrema H et *al.*, 2010). L'ensemble de ces éléments renforce la nécessité d'étudier la zonation des fonctions du récepteur FXR et le lien potentiel de celui-ci avec le maintien de la zonation. Toutefois, cette étude de la

zonation nécessite des modèles qui le permettent, tant d'un point de vue expression de gènes, fonction des protagonistes impliqués que mécanismes moléculaires mis en jeu. Les modèles décrits dans la littérature sont très peu nombreux. Pouvoir développer de tels modèles, qui permettent en outre de générer des résultats fiables, cohérents entre les différents modèles et reproductibles, est un défi de ce projet, d'autant plus que ces modèles, une fois développés, pourront être utilisés pour répondre à d'autres questions scientifiques en lien avec la zonation.

VI. Bibliographie

Abdelkarim M, Caron S, Duhem C, Prawitt J, Dumont J, Lucas A, Bouchaert E, Briand O, Brozek J, Kuipers F, Fievet C, Cariou B, Staels B. (2010) The farnesoid X receptor regulates adipocyte differentiation and function by promoting peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and interfering with the Wnt/beta-catenin pathways. *J Biol Chem.* **285**:36759.

Amasheh S, Meiri N, Gitter AH, Schöneberg T, Mankertz J, Schulzke JD, Fromm M. (2002) Claudin-2 expression induces cation-selective channels in tight junctions of epithelial cells. *J Cell Sci.* **115**:4969.

Anagnostou SH, Shepherd PR. (2008) Glucose induces an autocrine activation of the Wnt/beta-catenin pathway in macrophage cell lines. *Biochem J.* **416**:211.

Aranha MM, Cortez-Pinto H, Costa A, da Silva IB, Camilo ME, de Moura MC, Rodrigues CM. (2008) Bile acid levels are increased in the liver of patients with steatohepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* **20**:519.

Audard V, Grimber G, Elie C, Radenen B, Audebourg A, Letourneur F, Soubrane O, Vacher-Lavenu MC, Perret C, Cavard C, Terris B. (2007) Cholestasis is a marker for hepatocellular carcinomas displaying beta-catenin mutations. *J Pathol.* **212**:345.

Baier PK, Hempel S, Waldvogel B, Baumgartner U. (2006) Zonation of hepatic bile salt transporters. *Dig Dis Sci.* **51**:587.

Baraille F, Planchais J, Dentin R, Guilmeau S, Postic C. (2015) Integration of ChREBP-Mediated Glucose Sensing into Whole Body Metabolism. *Physiology (Bethesda).* **30**:428.

Barlow C, Schroeder M, Lekstrom-Himes J, Kylefjord H, Deng CX, Wynshaw-Boris A, Spiegelman BM, Xanthopoulos KG. (1997) Targeted expression of Cre recombinase to adipose tissue of transgenic mice directs adipose-specific excision of loxP-flanked gene segments. *Nucleic Acids Res.* **25**:2543.

Batal R, Tremblay M, Barrett PH, Jacques H, Fredenrich A, Mamer O, Davignon J, Cohn JS. (2000) .Plasma kinetics of apoC-III and apoE in normolipidemic and hypertriglyceridemic subjects. *J Lipid Res.* **41**:706.

Bastard JP & Fève B. (2013) *Physiology and Physiopathology of Adipose Tissue (Springer).*

Behari J. (2010) The Wnt/ β -catenin signaling pathway in liver biology and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* **4**:745.

Behari J, Yeh TH, Krauland L, Otruba W, Cieply B, Hauth B, Apte U, Wu T, Evans R, Monga SP. (2010) Liver-specific beta-catenin knockout mice exhibit defective bile acid and cholesterol homeostasis and increased susceptibility to diet-induced steatohepatitis. *Am J Pathol.* **176**:744.

Behari J, Li H, Liu S, Stefanovic-Racic M, Alonso L, O'Donnell CP, Shiva S, Singamsetty S, Watanabe Y, Singh VP, Liu Q. (2014) β -catenin links hepatic metabolic zonation with lipid metabolism and diet-induced obesity in mice. *Am J Pathol.* **184**:3284.

Benhamouche S, Decaens T, Godard C, Chambrey R, Rickman DS, Moinard C, Vasseur-Cognet M, Kuo CJ, Kahn A, Perret C, Colnot S. (2006) Apc tumor suppressor gene is the "zonation-keeper" of mouse liver. *Dev Cell.* **10**:759.

- Berrabah W, Aumercier P, Gheeraert C, Dehondt H, Bouchaert E, Alexandre J, Ploton M, Mazuy C, Caron S, Tailleux A, Eeckhoutte J, Lefebvre T, Staels B, Lefebvre P. (2014) Glucose sensing O-GlcNAcylation pathway regulates the nuclear bile acid receptor farnesoid X receptor (FXR). *Hepatology* **59**:2022.
- Bourlier V, Zakaroff-Girard A, Miranville A, De Barros S, Maumus M, Sengenès C, Galitzky J, Lafontan M, Karpe F, Frayn KN, Bouloumié A. (2008) Remodeling phenotype of human subcutaneous adipose tissue macrophages. *Circulation*. **117**:806.
- Braeuning A, Ittrich C, Köhle C, Hailfinger S, Bonin M, Buchmann A, Schwarz M. (2006) Differential gene expression in periportal and perivenous mouse hepatocytes. *FEBS J*. **273**:5051.
- Braeuning A, Menzel M, Kleinschnitz EM, Harada N, Tamai Y, Köhle C, Buchmann A, Schwarz M. (2007) Serum components and activated Ha-ras antagonize expression of perivenous marker genes stimulated by beta-catenin signaling in mouse hepatocytes. *FEBS J*. **274**:4766.
- Braeuning A, Sanna R, Huelsken J, Schwarz M. (2009) Inducibility of drug-metabolizing enzymes by xenobiotics in mice with liver-specific knockout of *Ctnnb1*. *Drug Metab Dispos*. **37**:1138.
- Brosnan ME, Brosnan JT. (2009) Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepatocytes. *Am J Clin Nutr*. **90**:857S.
- Cariou B, van Harmelen K, Duran-Sandoval D, van Dijk TH, Grefhorst A, Abdelkarim M, Caron S, Torpier G, Fruchart JC, Gonzalez FJ, Kuipers F, Staels B. (2006) The farnesoid X receptor modulates adiposity and peripheral insulin sensitivity in mice. *J Biol Chem*. **281**:11039.
- Caron S, Charon M, Cramer E, Sonenberg N, Dusanter-Fourt I. Selective modification of eIF4F at the onset of cell differentiation : recruitment of eIF4GII and long-lasting phosphorylation of eIF4E. (2004) *Mol. Cell. Biol*. **24**:4920.
- Caron S, Verrijken A, Mertens I, Samanez CH, Mautino G, Haas JT, Duran-Sandoval D, Prawitt J, Francque S, Vallez E, Muhr-Tailleux A, Berard I, Kuipers F, Kuivenhoven JA, Biddinger SB, Taskinen MR, Van Gaal L, Staels B. (2011) Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. **31**:513.
- Caron S, Huaman Samanez C, Dehondt H, Ploton M, Briand O, Lien F, Dorchies E, Dumont J, Postic C, Cariou B, Lefebvre P, Staels B. (2013) Farnesoid X receptor inhibits the transcriptional activity of carbohydrate response element binding protein in human hepatocytes. *Mol Cell Biol*. **33**:2202.
- Chafey P, Finzi L, Boisgard R, Caüzac M, Clary G, Broussard C, Pégrier JP, Guillonneau F, Mayeux P, Camoin L, Tavitian B, Colnot S, Perret C. (2009) Proteomic analysis of beta-catenin activation in mouse liver by DIGE analysis identifies glucose metabolism as a new target of the Wnt pathway. *Proteomics* **9**:3889.
- Chen Y, Song X, Valanejad L, Vasilenko A, More V, Qiu X, Chen W, Lai Y, Slitt A, Stoner M, Yan B, Deng R. (2013) Bile salt export pump is dysregulated with altered farnesoid X receptor isoform expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. **57**:1530.
- Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. (2008) Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. **294**:G39.

- Chocarro-Calvo A, García-Martínez JM, Ardila-González S, De la Vieja A, García-Jiménez C. (2013) Glucose-induced β -catenin acetylation enhances Wnt signaling in cancer. *Mol Cell*. **49**:474.
- Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, Kim JI, Kim JB. (2016) Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)*. **7**:30.
- Christodoulides C, Lagathu C, Sethi JK, Vidal-Puig A. (2009) Adipogenesis and WNT signalling. *Trends Endocrinol Metab*. **20**:16.
- Cisternas P, Salazar P, Silva-Álvarez C, Barros LF, Inestrosa NC. (2016) Activation of Wnt Signaling in Cortical Neurons Enhances Glucose Utilization through Glycolysis. *J Biol Chem*. **291**:25950.
- Clevers H. (2006) Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell* **127**:469.
- de La Coste A, Romagnolo B, Billuart P, Renard CA, Buendia MA, Soubrane O, Fabre M, Chelly J, Beldjord C, Kahn A, Perret C. (1998) Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **95**:8847.
- Colletti M, Cicchini C, Conigliaro A, Santangelo L, Alonzi T, Pasquini E, Tripodi M, Amicone L. (2009) Convergence of Wnt signaling on the HNF4alpha-driven transcription in controlling liver zonation. *Gastroenterology* **137**:660.
- Colnot S, Perret C. (2011) Liver zonation. *Molecular Pathology of Liver Diseases (Springer)*: 7.
- Danielson PB. (2002) The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Curr Drug Metab*. **3**:561.
- Dar MS, Singh P, Singh G, Jamwal G, Hussain SS, Rana A, Akhter Y, Monga SP, Dar MJ. (2016) Terminal regions of β -catenin are critical for regulating its adhesion and transcription functions. *Biochim Biophys Acta*. **1863**:2345.
- Dees C, Distler JH. (2013) Canonical Wnt signalling as a key regulator of fibrogenesis - implications for targeted therapies? *Exp Dermatol*. **22**:710.
- Divoux A, Tordjman J, Lacasa D, Veyrie N, Hugol D, Aissat A, Basdevant A, Guerre-Millo M, Poitou C, Zucker JD, Bedossa P, Clément K. (2010) Fibrosis in human adipose tissue: composition, distribution, and link with lipid metabolism and fat mass loss. *Diabetes*. **59**:2817.
- Duboc H, Taché Y, Hofmann AF (2014). The bile acid TGR5 membrane receptor: from basic research to clinical application. *Dig Liver Dis*. **46**:302.
- Duran-Sandoval D, Mautino G, Martin G, Percevault F, Barbier O, Fruchart JC, Kuipers F, Staels B. (2004) Glucose regulates the expression of the farnesoid X receptor in liver. *Diabetes* **53**:890.
- Duran-Sandoval D, Cariou B, Fruchart JC, Staels B. (2005a) Potential regulatory role of the farnesoid X receptor in the metabolic syndrome. *Biochimie* **87**:93.
- Duran-Sandoval D, Cariou B, Percevault F, Hennuyer N, Grefhorst A, van Dijk TH, Gonzalez FJ, Fruchart JC, Kuipers F, Staels B. (2005b) The farnesoid X receptor modulates hepatic carbohydrate metabolism during the fasting-refeeding transition. *J Biol Chem* **280**:29971.

- Evrard C, Caron S, Rouget P. (2004) Functional analysis of the NPDC-1 gene. *Gene* **343**:153.
- Farmer SR. (2005) Regulation of PPARgamma activity during adipogenesis. *Int J Obes (Lond)*. **29** Suppl 1:S13.
- Ferslew BC, Xie G, Johnston CK, Su M, Stewart PW, Jia W, Brouwer KL, Barritt AS (2015). Altered Bile Acid Metabolome in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. **60**:3318.
- Fiorucci S, Cipriani S, Mencarelli A, Baldelli F, Bifulco G, Zampella A. (2011) Farnesoid X receptor agonist for the treatment of liver and metabolic disorders: focus on 6-ethyl-CDCA. *Mini Rev Med Chem*. **11**:753.
- Forman BM, Goode E, Chen J, Oro AE, Bradley DJ, Perlmann T, Noonan DJ, Burka LT, McMorris T, Lamph WW, Evans RM, Weinberger C. (1995) Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell* **81**:687.
- Frikke-Schmidt H, O'Rourke RW, Lumeng CN, Sandoval DA, Seeley RJ. (2016) Does bariatric surgery improve adipose tissue function? *Obes Rev*. **17**:795.
- Gadaleta RM, Oldenburg B, Willemsen EC, Spit M, Murzilli S, Salvatore L, Klomp LW, Siersema PD, van Erpecum KJ, van Mil SW. (2011a) Activation of bile salt nuclear receptor FXR is repressed by pro-inflammatory cytokines activating NF- κ B signaling in the intestine. *Biochim Biophys Acta*. **1812**:851.
- Gadaleta RM, van Erpecum KJ, Oldenburg B, Willemsen EC, Renooij W, Murzilli S, Klomp LW, Siersema PD, Schipper ME, Danese S, Penna G, Laverny G, Adorini L, Moschetta A, van Mil SW. (2011b) Farnesoid X receptor activation inhibits inflammation and preserves the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *Gut*. **60**:463.
- Ge WS, Wang YJ, Wu JX, Fan JG, Chen YW, Zhu L. (2014) β -catenin is overexpressed in hepatic fibrosis and blockage of Wnt/ β -catenin signaling inhibits hepatic stellate cell activation. *Mol Med Rep*. **9**:2145.
- Gebhardt R. (1988) Isolation of Periportal and Pericentral Hepatocytes. *Cytochrome P450 Protocols* **107**:319.
- Gebhardt R. (1992) Metabolic zonation of the liver: regulation and implications for liver function. *Pharmacol Ther*. **53**:275.
- Gebhardt R, Matz-Soja M. (2014) Liver zonation: Novel aspects of its regulation and its impact on homeostasis. *World J Gastroenterol*. **20**:8491.
- Giera S, Braeuning A, Köhle C, Bursch W, Metzger U, Buchmann A, Schwarz M. (2010) Wnt/beta-catenin signaling activates and determines hepatic zonal expression of glutathione S-transferases in mouse liver. *Toxicol Sci*. **115**:22.
- Gilglioni EH, Chang JC, Duijst S, Go S, Adam AAA, Hoekstra R, Verhoeven AJ, Ishii-Iwamoto EL, Oude Elferink RPJ. (2018) Improved oxygenation dramatically alters metabolism and gene expression in cultured primary mouse hepatocytes. *Hepatol Commun*. **2**:299.

Ginsberg HN, Le NA, Goldberg IJ, Gibson JC, Rubinstein A, Wang-Iverson P, Norum R, Brown WV. (1986) Apolipoprotein B metabolism in subjects with deficiency of apolipoproteins CIII and AI. Evidence that apolipoprotein CIII inhibits catabolism of triglyceride-rich lipoproteins by lipoprotein lipase in vivo. *J Clin Invest.* **78**:1287.

Go GW, Srivastava R, Hernandez-Ono A, Gang G, Smith SB, Booth CJ, Ginsberg HN, Mani A. (2014) The combined hyperlipidemia caused by impaired Wnt-LRP6 signaling is reversed by Wnt3a rescue. *Cell Metab.* **19**:209.

Gripou P, Rumin S, Urban S, Le Seyec J, Glaize D, Cannie I, Guyomard C, Lucas J, Trepou C, Guguen-Guillouzo C. (2002) Infection of a human hepatoma cell line by hepatitis B virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **99**:15655.

Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J, Helgason A, Stefansson H, Emilsson V, Helgadottir A, Styrkarsdottir U, Magnusson KP, Walters GB, Palsdottir E, Jonsdottir T, Gudmundsdottir T, Gylfason A, Saemundsdottir J, Wilensky RL, Reilly MP, Rader DJ, Bagger Y, Christiansen C, Gudnason V, Sigurdsson G, Thorsteinsdottir U, Gulcher JR, Kong A, Stefansson K. (2006) Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet.* **38**:320.

Hailfinger S, Jaworski M, Braeuning A, Buchmann A, Schwarz M. (2006) Zonal gene expression in murine liver: lessons from tumors. *Hepatology* **43**:407.

Halpern KB, Shenhav R, Matcovitch-Natan O, Toth B, Lemze D, Golan M, Massasa EE, Baydatch S, Landen S, Moor AE, Brandis A, Giladi A, Avihail AS, David E, Amit I, Itzkovitz S. (2017) Single-cell spatial reconstruction reveals global division of labour in the mammalian liver. *Nature* **542**:352.

Harada N, Oshima H, Katoh M, Tamai Y, Oshima M, Taketo MM. (2004) Hepatocarcinogenesis in mice with beta-catenin and Ha-ras gene mutations. *Cancer Res.* **64**:48.

Hayhurst GP, Lee YH, Lambert G, Ward JM, Gonzalez FJ. (2001) Hepatocyte nuclear factor 4alpha (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol Cell Biol.* **21**:1393.

Herrema H, Meissner M, van Dijk TH, Brufau G, Boverhof R, Oosterveer MH, Reijngoud DJ, Müller M, Stellaard F, Groen AK, Kuipers F. (2010) Bile salt sequestration induces hepatic de novo lipogenesis through farnesoid X receptor- and liver X receptor alpha-controlled metabolic pathways in mice. *Hepatology* **51**:806.

Hirokane H, Nakahara M, Tachibana S, Shimizu M, Sato R. (2004) Bile acid reduces the secretion of very low density lipoprotein by repressing microsomal triglyceride transfer protein gene expression mediated by hepatocyte nuclear factor-4. *J Biol Chem.* **279**:45685.

Haidari M, Zhang W, Willerson JT, Dixon RA. (2014) Disruption of endothelial adherens junctions by high glucose is mediated by protein kinase C-β-dependent vascular endothelial cadherin tyrosine phosphorylation. *Cardiovasc Diabetol.* **13**:105.

Hijmans BS, Grefhorst A, Oosterveer MH, Groen AK. (2013) Zonation of glucose and fatty acid metabolism in the liver: mechanism and metabolic consequences. *Biochimie* **96**:121.

- Hino S, Tanji C, Nakayama KI, Kikuchi A. (2005) Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase stabilizes beta-catenin through inhibition of its ubiquitination. *Mol Cell Biol.* **25**:9063.
- Hirokane H, Nakahara M, Tachibana S, Shimizu M, Sato R. (2004) Bile acid reduces the secretion of very low density lipoprotein by repressing microsomal triglyceride transfer protein gene expression mediated by hepatocyte nuclear factor-4. *J Biol Chem* **279**:45685.
- Hoshida Y, Nijman SM, Kobayashi M, Chan JA, Brunet JP, Chiang DY, Villanueva A, Newell P, Ikeda K, Hashimoto M, Watanabe G, Gabriel S, Friedman SL, Kumada H, Llovet JM, Golub TR. (2009) Integrative transcriptome analysis reveals common molecular subclasses of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* **69**:7385.
- Huh JY, Park YJ, Ham M, Kim JB. (2014) Crosstalk between adipocytes and immune cells in adipose tissue inflammation and metabolic dysregulation in obesity. *Mol Cells.* **37**:365.
- Hunt CR, Ro JH, Dobson DE, Min HY, Spiegelman BM. (1986) Adipocyte P2 gene: developmental expression and homology of 5'-flanking sequences among fat cell-specific genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **83**:3786.
- Ingham PW, Nakano Y, Seger C. (2011) Mechanisms and functions of Hedgehog signalling across the metazoa. *Nat Rev Genet.* **12**:393.
- Ip W, Shao W, Chiang YT, Jin T. (2012) The Wnt signaling pathway effector TCF7L2 is upregulated by insulin and represses hepatic gluconeogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **303**:E1166.
- Ito Y, Azrolan N, O'Connell A, Walsh A, Breslow JL. (1990) Hypertriglyceridemia as a result of human apo CIII gene expression in transgenic mice. *Science* **249**:790.
- Jiang F, Parsons CJ, Stefanovic B. (2006) Gene expression profile of quiescent and activated rat hepatic stellate cells implicates Wnt signaling pathway in activation. *J Hepatol.* **45**:401.
- Jong MC, Rensen PC, Dahlmans VE, van der Boom H, van Berkel TJ, Havekes LM. (2001) Apolipoprotein C-III deficiency accelerates triglyceride hydrolysis by lipoprotein lipase in wild-type and apoE knockout mice. *J Lipid Res.* **42**:1578.
- Kahn M. (2014) Can we safely target the WNT pathway? *Nat Rev Drug Discov.* **13**:513.
- Kalhan SC, Guo L, Edmison J, Dasarathy S, McCullough AJ, Hanson RW, Milburn M. (2011) Plasma metabolomic profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* **60**:404.
- Kam Y, Quaranta V. (2009) Cadherin-bound beta-catenin feeds into the Wnt pathway upon adherens junctions dissociation: evidence for an intersection between beta-catenin pools. *PLoS One.* **4**:e4580.
- Kaska L, Sledzinski T, Chomiczewska A, Dettlaff-Pokora A, Swierczynski J. (2016) Improved glucose metabolism following bariatric surgery is associated with increased circulating bile acid concentrations and remodeling of the gut microbiome. *World J Gastroenterol.* **22**:8698.
- Keophiphath M, Achard V, Henegar C, Rouault C, Clément K, Lacasa D. (2008) Macrophage-secreted factors promote a profibrotic phenotype in human preadipocytes. *Mol Endocrinol.* **23**:11.

- Kietzmann T. (2017) Metabolic zonation of the liver: The oxygen gradient revisited. *Redox Biol.* **11**:622.
- Kordes C, Sawitza I, Häussinger D. (2008) Canonical Wnt signaling maintains the quiescent stage of hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun.* **367**:116.
- Kubota N, Kubota T, Kajiwara E, Iwamura T, Kumagai H, Watanabe T, Inoue M, Takamoto I, Sasako T, Kumagai K, Kohjima M, Nakamuta M, Moroi M, Sugi K, Noda T, Terauchi Y, Ueki K, Kadowaki T. (2016) Differential hepatic distribution of insulin receptor substrates causes selective insulin resistance in diabetes and obesity. *Nat Commun.* **7**:12977.
- Kuipers F, Stroeve JH, Caron S, Staels B. (2007) Bile acids, farnesoid X receptor, atherosclerosis and metabolic control. *Curr Opin Lipidol.* **18**:289.
- Kuipers F, Bloks VW, Groen AK. (2014) Beyond intestinal soap-bile acids in metabolic control. *Nat Rev Endocrinol.* **10**:488.
- Lacasa D, Taleb S, Keophiphath M, Miranville A, Clement K. (2007) Macrophage-secreted factors impair human adipogenesis: involvement of proinflammatory state in preadipocytes. *Endocrinology.* **148**:868.
- Lavrentiadou SN, Hadzopoulou-Cladaras M, Kardassis D, Zannis VI. (1999) Binding specificity and modulation of the human ApoCIII promoter activity by heterodimers of ligand-dependent nuclear receptors. *Biochemistry* **38**:964.
- Le NA, Gibson JC, Ginsberg HN. (1988) Independent regulation of plasma apolipoprotein C-II and C-III concentrations in very low density and high density lipoproteins: implications for the regulation of the catabolism of these lipoproteins. *J Lipid Res.* **29**:669.
- Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B.. (2009) Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev.* **89**:147.
- Lemberger UJ, Fuchs C, Karer M, Haas S, Stojakovic T, Schöfer C, Marschall HU, Wrba F, Taketo MM, Egger G, Trauner M, Österreicher CH. (2016) Hepatocyte specific expression of an oncogenic variant of β -catenin results in cholestatic liver disease. *Oncotarget* **7**:86985.
- Li G, Zhu Y, Tawfik O, Kong B, Williams JA, Zhan L, Kassel KM, Luyendyk JP, Wang L, Guo GL. (2013) Mechanisms of STAT3 activation in the liver of FXR knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* **305**:G829.
- Libro R, Bramanti P, Mazzone E. (2016) The role of the Wnt canonical signaling in neurodegenerative diseases. *Life Sci.* **158**:78.
- Lindros KO, Oinonen T, Issakainen J, Nagy P, Thorgeirsson SS. (1997) Zonal distribution of transcripts of four hepatic transcription factors in the mature rat liver. *Cell Biol Toxicol.* **13**:257.
- Liu H, Pathak P, Boehme S, Chiang JY. (2016) Cholesterol 7 α -hydroxylase protects the liver from inflammation and fibrosis by maintaining cholesterol homeostasis. *J Lipid Res.* **57**:1831.
- Liu J, Farmer SR. (2004) Regulating the balance between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and beta-catenin signaling during adipogenesis. A glycogen synthase kinase 3beta phosphorylation-defective mutant of beta-catenin inhibits expression of a subset of adipogenic genes. *J Biol Chem.* **279**:45020.

- Liu J, Wang H, Zuo Y, Farmer SR. (2006) Functional interaction between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and beta-catenin. *Mol Cell Biol.* **26**:5827.
- Liu W, Singh R, Choi CS, Lee HY, Keramati AR, Samuel VT, Lifton RP, Shulman GI, Mani A. (2012) Low density lipoprotein (LDL) receptor-related protein 6 (LRP6) regulates body fat and glucose homeostasis by modulating nutrient sensing pathways and mitochondrial energy expenditure. *J Biol Chem.* **287**:7213.
- Liu H, Fergusson MM, Wu JJ, Rovira II, Liu J, Gavrilova O, Lu T, Bao J, Han D, Sack MN, Finkel T. (2011) Wnt signaling regulates hepatic metabolism. *Sci Signal.* **4**:ra6.
- Liu X, Zhang X, Ji L, Gu J, Zhou M, Chen S. (2015) Farnesoid X receptor associates with β -catenin and inhibits its activity in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* **6**:4226.
- Loeppen S, Koehle C, Buchmann A, Schwarz M. (2005) A beta-catenin-dependent pathway regulates expression of cytochrome P450 isoforms in mouse liver tumors. *Carcinogenesis* **26**:239.
- Logan CY, Nusse R. (2004) The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol.* **20**:781.
- Lyssenko V, Groop L, Prasad RB. (2015) Genetics of Type 2 Diabetes: It Matters From Which Parent We Inherit the Risk. *Rev Diabet Stud.* **12**:233.
- Ma K, Saha PK, Chan L, Moore DD. (2006) Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis. *J Clin Invest.* **116**:1102.
- Maeda N, Li H, Lee D, Oliver P, Quarfordt SH, Osada J. (1994) Targeted disruption of the apolipoprotein C-III gene in mice results in hypotriglyceridemia and protection from postprandial hypertriglyceridemia. *J Biol Chem.* **269**:23610.
- Magné S, Caron S, Charon M, Rouyez MC, Dusanter-Fourt I. (2003) STAT5 and Oct-1 form a stable complex that modulates cyclin D1 expression. *Mol. Cell. Biol.* **23**:8934.
- Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, Tu H, Learned RM, Luk A, Hull MV, Lustig KD, Mangelsdorf DJ, Shan B. (1999) Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science* **284**:1362.
- Maneschi E, Vignozzi L, Morelli A, Mello T, Filippi S, Cellai I, Comeglio P, Sarchielli E, Calcagno A, Mazzanti B, Vettor R, Vannelli GB, Adorini L, Maggi M. (2013) FXR activation normalizes insulin sensitivity in visceral preadipocytes of a rabbit model of MetS. *J Endocrinol.* **218**:215.
- Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, Mani A, Mani MA, Nelson-Williams C, Carew KS, Mane S, Najmabadi H, Wu D, Lifton RP. (2007) LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science* **315**:1278.
- Maran RR, Thomas A, Roth M, Sheng Z, Esterly N, Pinson D, Gao X, Zhang Y, Ganapathy V, Gonzalez FJ, Guo GL. (2009) Farnesoid X receptor deficiency in mice leads to increased intestinal epithelial cell proliferation and tumor development. *J Pharmacol Exp Ther.* **328**:469.
- Marcia M. (2008) Bile acid levels are increased in the liver of patients with steatohepatitis. *Eur J Gastro Hepatol.* **20**:519.

- Matsushita K, Morello F, Zhang Z, Masuda T, Iwanaga S, Steffensen KR, Gustafsson JÅ, Pratt RE, Dzau VJ. (2016) Nuclear hormone receptor LXR α inhibits adipocyte differentiation of mesenchymal stem cells with Wnt/beta-catenin signaling. *Lab Invest.* **96**:230.
- Matz-Soja M, Hovhannisyan A, Gebhardt R. (2013) Hedgehog signalling pathway in adult liver: a major new player in hepatocyte metabolism and zonation? *Med Hypotheses* **80**:589.
- Mazuy C, Helleboid A, Staels B, Lefebvre P. (2015) Nuclear bile acid signaling through the farnesoid X receptor. *Cell Mol Life Sci.* **72**:1631.
- McGettigan BM, McMahan RH, Luo Y, Wang XX, Orlicky DJ, Porsche C, Levi M, Rosen HR. (2016) Sevelamer Improves Steatohepatitis, Inhibits Liver and Intestinal Farnesoid X Receptor (FXR), and Reverses Innate Immune Dysregulation in a Mouse Model of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *J Biol Chem.* **291**:23058.
- Mendivil CO, Zheng C, Furtado J, Lel J, Sacks FM. (2010) Metabolism of very-low-density lipoprotein and low-density lipoprotein containing apolipoprotein C-III and not other small apolipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **30**:239.
- Modica S, Murzilli S, Salvatore L, Schmidt DR, Moschetta A. (2008) Nuclear bile acid receptor FXR protects against intestinal tumorigenesis. *Cancer Res.* **68**:9589.
- Moldes M, Zuo Y, Morrison RF, Silva D, Park BH, Liu J, Farmer SR. (2003) Peroxisome-proliferator-activated receptor gamma suppresses Wnt/beta-catenin signalling during adipogenesis. *Biochem J.* **376**:607.
- Monga SP, Mars WM, Pediaditakis P, Bell A, Mulé K, Bowen WC, Wang X, Zarnegar R, Michalopoulos GK. (2002) Hepatocyte growth factor induces Wnt-independent nuclear translocation of beta-catenin after Met-beta-catenin dissociation in hepatocytes. *Cancer Res.* **62**:2064.
- Monga SP. (2014) Role and regulation of β -catenin signaling during physiological liver growth. *Gene Expr.* **16**:51.
- Monga SP. (2015) β -Catenin Signaling and Roles in Liver Homeostasis, Injury, and Tumorigenesis. *Gastroenterology* **148**:1294.
- Mudaliar S, Henry RR, Sanyal AJ, Morrow L, Marschall HU, Kipnes M, Adorini L, Sciacca CI, Clopton P, Castleoe E, Dillon P, Pruzanski M, Shapiro D. (2013) Efficacy and safety of the farnesoid X receptor agonist obeticholic acid in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* **145**:574.
- Mulholland DJ, Dedhar S, Coetzee GA, Nelson CC. (2005) Interaction of nuclear receptors with the Wnt/beta-catenin/Tcf signaling axis: Wnt you like to know? *Endocr Rev.* **26**:898.
- Myronovych A, Kirby M, Ryan KK, Zhang W, Jha P, Setchell KD, Dexheimer PJ, Aronow B, Seeley RJ, Kohli R. (2014) Vertical sleeve gastrectomy reduces hepatic steatosis while increasing serum bile acids in a weight-loss-independent manner. *Obesity (Silver Spring).* **22**:390.
- Myung SJ, Yoon JH, Gwak GY, Kim W, Lee JH, Kim KM, Shin CS, Jang JJ, Lee SH, Lee SM, Lee HS. (2007) Wnt signaling enhances the activation and survival of human hepatic stellate cells. *FEBS Lett.* **581**:2954.

Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanyal AJ, Lavine JE, Van Natta ML, Abdelmalek MF, Chalasani N, Dasarathy S, Diehl AM, Hameed B, Kowdley KV, McCullough A, Terrault N, Clark JM, Tonascia J, Brunt EM, Kleiner DE, Doo E; NASH Clinical Research Network. (2015) Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* **385**:956.

Nijmeijer RM, Gadaleta RM, van Mil SW, van Bodegraven AA, Crusius JB, Dijkstra G, Hommes DW, de Jong DJ, Stokkers PC, Verspaget HW, Weersma RK, van der Woude CJ, Stapelbroek JM, Schipper ME, Wijmenga C, van Erpecum KJ, Oldenburg B; Dutch Initiative on Crohn, Colitis (ICC). (2011) Farnesoid X receptor (FXR) activation and FXR genetic variation in inflammatory bowel disease. *PLoS One* **6**:e23745.

Noel OF, Still CD, Argyropoulos G, Edwards M, Gerhard GS. (2016) Bile Acids, FXR, and Metabolic Effects of Bariatric Surgery. *J Obes.* **2016**:4390254.

Odom DT, Zizlsperger N, Gordon DB, Bell GW, Rinaldi NJ, Murray HL, Volkert TL, Schreiber J, Rolfe PA, Gifford DK, Fraenkel E, Bell GI, Young RA. (2004) Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science* **303**:1378.

Omenetti A, Choi S, Michelotti G, Diehl AM. (2011) Hedgehog signaling in the liver. *J Hepatol.* **54**:366.

Parks DJ, Blanchard SG, Bledsoe RK, Chandra G, Consler TG, Kliewer SA, Stimmel JB, Willson TM, Zavacki AM, Moore DD, Lehmann JM. (1999) Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science* **284**:1365.

Parséus A, Sommer N, Sommer F, Caesar R, Molinaro A, Ståhlman M, Greiner TU, Perkins R, Bäckhed F. (2016) Microbiota-induced obesity requires farnesoid X receptor. *Gut* 2016 Jan 6.

Pate KT, Stringari C, Sprowl-Tanio S, Wang K, TeSlaa T, Hoverter NP, McQuade MM, Garner C, Digman MA, Teitell MA, Edwards RA, Gratton E, Waterman ML. (2014) Wnt signaling directs a metabolic program of glycolysis and angiogenesis in colon cancer. *EMBO J.* **33**:1454.

Pellicciari R, Fiorucci S, Camaioni E, Clerici C, Costantino G, Maloney PR, Morelli A, Parks DJ, Willson TM. (2002) 6 α -ethyl-chenodeoxycholic acid (6-ECDC), a potent and selective FXR agonist endowed with anticholestatic activity. *J Med Chem.* **45**:3569.

Popov VB, Jornayvaz FR, Akgul EO, Kanda S, Jurczak MJ, Zhang D, Abudukadier A, Majumdar SK, Guigni B, Petersen KF, Manchem VP, Bhanot S, Shulman GI, Samuel VT. (2016) Second-generation antisense oligonucleotides against β -catenin protect mice against diet-induced hepatic steatosis and hepatic and peripheral insulin resistance. *FASEB J.* **30**:1207.

Prawitt J, Abdelkarim M, Stroeve JH, Popescu I, Duez H, Velagapudi VR, Dumont J, Bouchaert E, van Dijk TH, Lucas A, Dorchie E, Daoudi M, Lestavel S, Gonzalez FJ, Oresic M, Cariou B, Kuipers F, Caron S, Staels B. (2011) Farnesoid X receptor deficiency improves glucose homeostasis in mouse models of obesity. *Diabetes* **60**:1861.

J. Prawitt, S. Caron, B. Staels. (2010) How to modulate FXR activity to treat the metabolic syndrome. *Drug Discovery Today : Disease Mechanisms*, **6**:e55.

Prawitt J, Caron S, Staels B. (2014) Glucose-lowering effects of intestinal bile acid sequestration through enhancement of splanchnic glucose utilization. *Trends Endocrinol Metab.* **25**:235.

- Rashid ST, Humphries JD, Byron A, Dhar A, Askari JA, Selley JN, Knight D, Goldin RD, Thursz M, Humphries MJ. (2012) Proteomic analysis of extracellular matrix from the hepatic stellate cell line LX-2 identifies CYR61 and Wnt-5a as novel constituents of fibrotic liver. *J Proteome Res.* **11**:4052.
- Rizzo G, Disante M, Mencarelli A, Renga B, Gioiello A, Pellicciari R, Fiorucci S. (2006) The farnesoid X receptor promotes adipocyte differentiation and regulates adipose cell function in vivo. *Mol Pharmacol.* **70**:1164.
- Rosen ED, Spiegelman BM. (2014) What we talk about when we talk about fat. *Cell.* **156**:20.
- Ross SE, Erickson RL, Gerin I, DeRose PM, Bajnok L, Longo KA, Misek DE, Kuick R, Hanash SM, Atkins KB, Andresen SM, Nebb HI, Madsen L, Kristiansen K, MacDougald OA. (2002) Microarray analyses during adipogenesis: understanding the effects of Wnt signaling on adipogenesis and the roles of liver X receptor alpha in adipocyte metabolism. *Mol Cell Biol.* **22**:5989.
- Rutkowski JM, Stern JH, Scherer PE. (2015) The cell biology of fat expansion. *J Cell Biol.* **208**:501.
- Ryan KK, Tremaroli V, Clemmensen C, Kovatcheva-Datchary P, Myronovych A, Karns R, Wilson-Pérez HE, Sandoval DA, Kohli R, Bäckhed F, Seeley RJ. (2014) FXR is a molecular target for the effects of vertical sleeve gastrectomy. *Nature.* **509**:183.
- Samanez CH, Caron S, Briand O, Dehondt H, Duplan I, Kuipers F, Hennuyer N, Clavey V, Staels B. (2012) The human hepatocyte cell lines IHH and HepaRG: models to study glucose, lipid and lipoprotein metabolism. *Arch Physiol Biochem.* **118**:102.
- Sayin SI, Wahlström A, Felin J, Jäntti S, Marschall HU, Bamberg K, Angelin B, Hyötyläinen T, Orešič M, Bäckhed F. (2013) Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab.* **17**:225.
- Schippers IJ, Moshage H, Roelofsen H, Müller M, Heymans HS, Ruiters M, Kuipers F. (1997) Immortalized human hepatocytes as a tool for the study of hepatocytic (de-) differentiation. *Cell Biol Toxicol.* **13**:375.
- Schmidt-Heck W, Matz-Soja M, Aleithe S, Marbach E, Guthke R, Gebhardt R. (2015) Fuzzy modeling reveals a dynamic self-sustaining network of the GLI transcription factors controlling important metabolic regulators in adult mouse hepatocytes. *Mol Biosyst.* **11**:2190.
- Schonfeld G, George PK, Miller J, Reilly P, Witztum J. (1979) .Apolipoprotein C-II and C-III levels in hyperlipoproteinemia. *Metab Clin Exp.* **28**:1001.
- Sekine S, Lan BY, Bedolli M, Feng S, Hebrok M. (2006) Liver-specific loss of beta-catenin blocks glutamine synthesis pathway activity and cytochrome p450 expression in mice. *Hepatology* **43**:817.
- Semenov MV, Habas R, Macdonald BT, He X. (2007) SnapShot: Noncanonical Wnt Signaling Pathways. *Cell* **131**:1378.
- Sethi JK, Vidal-Puig A. (2010) Wnt signalling and the control of cellular metabolism. *Biochem J.* **427**:1.

- Shackel NA, McGuinness PH, Abbott CA, Gorrell MD, McCaughan GW. (2001) Identification of novel molecules and pathogenic pathways in primary biliary cirrhosis: cDNA array analysis of intrahepatic differential gene expression. *Gut* **49**:565.
- Shao X, Wang M, Wei X, Deng S, Fu N, Peng Q, Jiang Y, Ye L, Xie J, Lin Y. (2016) Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ : Master Regulator of Adipogenesis and Obesity. *Curr Stem Cell Res Ther.* **11**:282.
- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. (2006) TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest.* **116**:3015.
- Shihabudeen MS, Roy D1, James J, Thirumurugan K. (2015) Chenodeoxycholic acid, an endogenous FXR ligand alters adipokines and reverses insulin resistance. *Mol Cell Endocrinol.* **414**:19.
- Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. (2000) Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell* **102**:731.
- Son S, Kojima T, Decaens C, Yamaguchi H, Ito T, Imamura M, Murata M, Tanaka S, Chiba H, Hirata K, Sawada N. (2009) Knockdown of tight junction protein claudin-2 prevents bile canalicular formation in WIF-B9 cells. *Histochem Cell Biol.* **131**:411.
- Soto-Gutierrez A, Gough A, Verneti LA, Taylor DL, Monga SP. (2017) Pre-clinical and clinical investigations of metabolic zonation in liver diseases: The potential of microphysiology systems. *Exp Biol Med (Maywood).* **242**:1605.
- Stanulović VS, Kyrnizi I, Kruithof-de Julio M, Hoogenkamp M, Vermeulen JL, Ruijter JM, Talianidis I, Hakvoort TB, Lamers WH. (2007) Hepatic HNF4alpha deficiency induces periportal expression of glutamine synthetase and other pericentral enzymes. *Hepatology* **45**:433.
- Stayrook KR, Bramlett KS, Savkur RS, Ficorilli J, Cook T, Christe ME, Michael LF, Burris TP. (2005) Regulation of carbohydrate metabolism by the farnesoid X receptor. *Endocrinology* **146**:984.
- Stocks J, Holdsworth G, Galton D. (1979) .Hypertriglyceridaemia associated with an abnormal triglyceride-rich lipoprotein carrying excess apolipoprotein C-III-2. *Lancet* **2**:667.
- Suganami T, Nishida J, Ogawa Y. (2005) A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **25**:2062.
- Tan X, Apte U, Micsenyi A, Kotsagrellos E, Luo JH, Ranganathan S, Monga DK, Bell A, Michalopoulos GK, Monga SP. (2005) Epidermal growth factor receptor: a novel target of the Wnt/beta-catenin pathway in liver. *Gastroenterology* **129**:285.
- Tanaka A, Leung PS, Kenny TP, Au-Young J, Prindiville T, Coppel RL, Ansari AA, Gershwin ME. (2001) Genomic analysis of differentially expressed genes in liver and biliary epithelial cells of patients with primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun.* **17**:89.
- Tang QQ, Lane MD. (2012) Adipogenesis: from stem cell to adipocyte. *Annu Rev Biochem.* **81**:715.
- Taurin S, Sandbo N, Qin Y, Browning D, Dulin NO. (2006) Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase. *J Biol Chem.* **281**:9971.

- Théard D, Steiner M, Kalicharan D, Hoekstra D, van Ijzendoorn SC. (2007) Cell polarity development and protein trafficking in hepatocytes lacking E-cadherin/beta-catenin-based adherens junctions. *Mol Biol Cell*. **18**:2313.
- Thompson MD, Monga SP. (2007) WNT/beta-catenin signaling in liver health and disease. *Hepatology* **45**:1298.
- Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. (1994) Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* **79**:1147.
- Tordjman J, Poitou C, Hugol D, Bouillot JL, Basdevant A, Bedossa P, Guerre-Millo M, Clement K. (2009) Association between omental adipose tissue macrophages and liver histopathology in morbid obesity: influence of glycemic status. *J Hepatol*. **51**:354.
- Torres J, Bao X, Iuga AC, Chen A, Harpaz N, Ullman T, Cohen BL, Pineton de Chambrun G, Asciutti S, Odin JA, Sachar DB, Gaskins HR, Setchell K, Colombel JF, Itzkowitz SH. (2013) Farnesoid X receptor expression is decreased in colonic mucosa of patients with primary sclerosing cholangitis and colitis-associated neoplasia. *Inflamm Bowel Dis*. **19**:275.
- Trabelsi MS, Daoudi M, Prawitt J, Ducastel S, Touche V, Sayin SI, Perino A, Brighton CA, Sebti Y, Kluza J, Briand O, Dehondt H, Vallez E, Dorchies E, Baud G, Spinelli V, Hennuyer N, Caron S, Bantubungi K, Caiazzo R, Reimann F, Marchetti P, Lefebvre P, Bäckhed F, Gribble FM, Schoonjans K, Pattou F, Tailleux A, Staels B, Lestavel S. (2015) Farnesoid X receptor inhibits glucagon-like peptide-1 production by enteroendocrine L cells. *Nat Commun*. **6**:7629.
- Vaira S, Friday E, Scott K, Conrad S, Turturro F. (2012) Wnt/ β -catenin signaling pathway and thioredoxin-interacting protein (TXNIP) mediate the "glucose sensor" mechanism in metastatic breast cancer-derived cells MDA-MB-231. *J Cell Physiol*. **227**:578.
- van Dijk TH, Grefhorst A, Oosterveer MH, Bloks VW, Staels B, Reijngoud DJ, Kuipers F. (2009) An increased flux through the glucose 6-phosphate pool in enterocytes delays glucose absorption in *Fxr*^{-/-} mice. *J Biol Chem*. **284**:10315.
- Vavassori P, Mencarelli A, Renga B, Distrutti E, Fiorucci S. (2009) The bile acid receptor FXR is a modulator of intestinal innate immunity. *J Immunol*. **183**:6251.
- Verbeke L, Farre R, Verbinnen B, Covens K, Vanuysel T, Verhaegen J, Komuta M, Roskams T, Chatterjee S, Annaert P, Vander Elst I, Windmolders P, Trebicka J, Nevens F, Laleman W. (2015) The FXR agonist obeticholic acid prevents gut barrier dysfunction and bacterial translocation in cholestatic rats. *Am J Pathol*. **185**:409.
- Verbeke L, Mannaerts I, Schierwagen R, Govaere O, Klein S, Vander Elst I, Windmolders P, Farre R, Wenes M, Mazzone M, Nevens F, van Grunsven LA, Trebicka J, Laleman W. (2016) FXR agonist obeticholic acid reduces hepatic inflammation and fibrosis in a rat model of toxic cirrhosis. *Sci Rep*. **6**:33453.
- Wang CS, McConathy WJ, Kloer HU, Alaupovic P. (1985) Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-III. *J Clin Invest*. **75**:384.
- Watanabe M, Houten SM, Wang L, Moschetta A, Mangelsdorf DJ, Heyman RA, Moore DD, Auwerx J. (2004) Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. *J Clin Invest*. **113**:1408.

- Wensveen FM, Valentić S, Šestan M, Turk Wensveen T, Polić B. (2015) The "Big Bang" in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. *Eur J Immunol.* **45**:2446.
- Wolfe A, Thomas A, Edwards G, Jaseja R, Guo GL, Apte U. (2011) Increased activation of the Wnt/ β -catenin pathway in spontaneous hepatocellular carcinoma observed in farnesoid X receptor knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther.* **338**:12.
- Xiong WJ, Hu LJ, Jian YC, Wang LJ, Jiang M, Li W, He Y. (2012) Wnt5a participates in hepatic stellate cell activation observed by gene expression profile and functional assays. *World J Gastroenterol.* **18**:1745.
- Xu Z, Huang G, Gong W, Zhou P, Zhao Y, Zhang Y, Zeng Y, Gao M, Pan Z, He F. (2012) FXR ligands protect against hepatocellular inflammation via SOCS3 induction. *Cell Signal.* **24**:1658.
- Yamada K, Noguchi T. (1999) Nutrient and hormonal regulation of pyruvate kinase gene expression. *Biochem J.* **337**:1.
- Yamashita H, Takenoshita M, Sakurai M, Bruick RK, Henzel WJ, Shillinglaw W, Arnot D, Uyeda K. (2001) A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **98**:9116.
- Yao J, Zhou CS, Ma X, Fu BQ, Tao LS, Chen M, Xu YP. (2014) FXR agonist GW4064 alleviates endotoxin-induced hepatic inflammation by repressing macrophage activation. *World J Gastroenterol.* **20**:14430.
- Yeh TH, Krauland L, Singh V, Zou B, Devaraj P, Stolz DB, Franks J, Monga SP, Sasatomi E, Behari J. (2010) Liver-specific β -catenin knockout mice have bile canalicular abnormalities, bile secretory defect, and intrahepatic cholestasis. *Hepatology* **52**:1410.
- Zannis VI, Cole FS, Jackson CL, Kurnit DM, Karathanasis SK. (1985) Distribution of apolipoprotein A-I, C-II, C-III, and E mRNA in fetal human tissues. Time-dependent induction of apolipoprotein E mRNA by cultures of human monocyte-macrophages. *Biochemistry* **24**:4450.
- Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. (2016) Wnt signaling in cancer. *Oncogene* 2016 Sep 12.
- Zhang Y, Lee FY, Barrera G, Lee H, Vales C, Gonzalez FJ, Willson TM, Edwards PA. (2006) Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **103**:1006.
- Zhang S, Wang J, Liu Q, Harnish DC. (2009) Farnesoid X receptor agonist WAY-362450 attenuates liver inflammation and fibrosis in murine model of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* **51**:380.
- Zhou F, Huo J, Liu Y, Liu H, Liu G, Chen Y, Chen B. (2016) Elevated glucose levels impair the WNT/ β -catenin pathway via the activation of the hexosamine biosynthesis pathway in endometrial cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* **159**:19.

VII. Annexes – Publications significatives