



HAL
open science

Stéatohépatite non-alcoolique et nécroptose

Jérémie Gautheron

► **To cite this version:**

Jérémie Gautheron. Stéatohépatite non-alcoolique et nécroptose. Médecine/Sciences, 2017, 33 (10), pp.832-834. 10.1051/medsci/20173310007 . hal-03976512

HAL Id: hal-03976512

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03976512>

Submitted on 21 Feb 2023

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.

Stéatohépatite non-alcoolique et nécroptose

Les différentes facettes de RIPK3

Clarifying the role of RIPK3 and necroptosis in non-alcoholic steatohepatitis

Jérémy Gautheron¹

¹Université Pierre et Marie Curie, UMR_S 938, INSERM, CDR Saint Antoine

jeremie.gautheron@gmail.com

➤ La stéatose hépatique non alcoolique (NALFD) est la plus fréquente des maladies chroniques du foie. Elle concerne 20 à 30% de la population générale et sa prévalence a doublé durant les 20 dernières années. NALFD se caractérise par une accumulation de lipides au niveau des hépatocytes et est fortement associée au développement de l'obésité. Une catégorie de patients affectés par la NALFD, estimée entre 15 et 30%, va progresser vers une stéatohépatite non alcoolique (NASH) qui se caractérise par des lésions hépatiques, de l'inflammation et le développement de la fibrose. Cette forme plus sévère de la maladie peut évoluer vers une cirrhose et l'apparition d'un carcinome hépato-cellulaire [1]. Il n'existe à l'heure actuelle aucun traitement médicamenteux efficace contre la NASH. Comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans la transition de la NAFLD vers la NASH est donc devenu un enjeu majeur. Une des différences fondamentales entre la NAFLD et la NASH réside dans la survenue de la mort massive des hépatocytes. Jusqu'à présent, plusieurs études se sont focalisées sur le rôle potentiel de l'apoptose dans ce processus [2, 3], mais en prenant en compte l'aspect inflammatoire de la maladie, d'autres types de mort cellulaire pourraient être impliqués [4].

Nécroptose

Découverte en 2009, la nécroptose ou nécrose programmée désigne un processus biologique de mort cellulaire qui partage la machinerie moléculaire des voies apoptotiques extrinsèques mais dont l'exécution s'apparente à la nécrose avec une oncose (gonflement de la cellule), une dilatation des organelles et une rupture de la

membrane plasmique [4, 5]. Cette séquence d'événements subcellulaires en commun avec la nécrose indique que la nécroptose pourrait être liée à des processus inflammatoires engendrés par la libération de molécules associées aux dégâts (*damage-associated molecular patterns, DAMPs*) tels que HMGB1 (*high-mobility group box 1*), IL-1 α (*interleukin-1 α*) et les HSPs (*heat-shock proteins*). En effet, depuis sa découverte, elle a été impliquée dans des maladies inflammatoires comme l'athérosclérose ou des lésions d'organes (cœur et rein) liées à des chocs ischémiques [6].

La nécroptose est initiée par la liaison d'un ligand sur les récepteurs membranaires de mort tels que TNFR1 (*tumor necrosis factor receptor 1*), TRAILR1 (*tumor-necrosis-factor related apoptosis inducing ligand receptor 1*), FASR (*fas receptor*) et sur les récepteurs de reconnaissance des pathogènes comme TLR3 (*toll-like receptor 3*) et TLR4. La fixation du ligand entraîne l'activation des kinases RIPK1 (*receptor interacting protein kinase 1*) et RIPK3 et la formation d'un complexe protéique inducteur de la nécrose appelé le nécrosome. Au sein de ce nécrosome, RIPK1 active RIPK3 qui phosphoryle la protéine MLKL (*mixed lineage kinase domain-like protein*). En retour, MLKL s'oligomérisse et rejoint la membrane plasmique pour y former des pores et provoquer un choc osmotique (*figure 1*) [7]. Les mécanismes par lesquels le nécrosome cause la mort cellulaire restent néanmoins très mal compris et d'autres investigations sont requises pour clarifier tous ces événements.

Des études récentes ont montré que les voies apoptotiques et nécroptotiques se régulaient mutuellement [7]. L'exemple qui caractérise le mieux cette co-régulation est la capacité de la Caspase-8, un élément central de la voie apoptotique extrinsèque, à inhiber la formation du nécrosome en clivant RIPK1 et RIPK3. À l'inverse, l'inhibition de la nécroptose par la Caspase-8 peut être levée par cFLIP (*cellular FLICE-like inhibitory protein*) qui inactive la Caspase-8 en formant un hétérodimère [7] (*figure 1*).

Bien que l'apoptose soit en générale considérée comme une mort non-immunogénique du point de vue de son processus, la présence de cellules apoptotiques est très souvent liée à des maladies infectieuses voir inflammatoires. L'étude du déterminisme de la mort cellulaire semble donc essentielle pour mieux comprendre les processus pathologiques responsables du développement de la NASH. Mourir par apoptose ou par nécroptose, telle est la question.

Role de la nécroptose dans le développement de la stéatohépatite non alcoolique

La présence de nécro-inflammation est une des caractéristiques histologiques des patients atteints de la NASH [1]. Récemment, il a été montré que l'expression de RIPK3 (ARNm et protéine) augmentait dans les foies humains des patients NASH [8, 9]. Ces résultats ont été corrélés en immunohistochimie avec RIPK3 et la forme phosphorylée de MLKL (forme active promotrice de la nécroptose) fortement augmentées au niveau de groupes d'hépatocytes entourés par de nombreuses cellules immunitaires [9, 10]. Ces résultats indiquent que la nécroptose est activée chez les humains et pourrait contribuer au développement de la NASH.

Des souris WT et RIPK3^{-/-} (invalidation dans tout l'organisme) ont ensuite été placées sous un régime déficient en choline et méthionine (*methionine choline deficient, MCD*) qui induit de la NASH indépendamment du développement de l'obésité. Les souris WT surexpriment RIPK3 de façon équivalente à celle observée chez les patients humains avec une accumulation de lipides au niveau des hépatocytes et un développement de la fibrose hépatique. Au contraire, les souris RIPK3^{-/-} restent bloquées au stade de la NALFD sans jamais progresser vers la NASH [8, 9]. De façon intéressante, les souris Caspase-8^{LPC-KO} (*liver parenchymal cells-knock out, LPC-KO*) montrent un niveau de surexpression de RIPK3 supérieur aux souris WT et par conséquent développent une NASH bien plus sévère. Par contre, les souris Caspase-8^{LPC-KO} se retrouvent à nouveau protégées contre le développement de la NASH en absence de RIPK3. Ces résultats ont donc confirmé que la nécroptose était responsable du développement de la NASH chez la souris et que la Caspase-8 agissait bien comme un suppresseur de la nécroptose [9]. De cette étude, une question reste néanmoins en suspens. Est ce que l'utilisation d'inhibiteurs de caspases pourrait être préjudiciable à long terme chez les patients NASH en induisant un revirement vers de la nécroptose ?

Une nouvelle fonction de RIPK3 indépendante de la nécroptose

Récemment, les souris WT et RIPK3^{-/-} ont été soumises à un régime riche en graisse (*high fat diet, HFD*) qui induit une NASH très modérée mais cette fois-ci associée au développement de l'obésité [11, 12]. De façon surprenante, au contraire du modèle MCD, l'absence de RIPK3 induit un développement de la NASH plus important que les souris WT et ceci accompagné d'un syndrome métabolique. L'analyse

histologique a révélé que les souris RIPK3^{-/-} avaient une augmentation significative de l'apoptose au niveau des hépatocytes et des adipocytes. Un phénotype normal peut être restauré par l'ablation de la Caspase-8 chez les animaux RIPK3^{-/-} [11]. De façon similaire, *in vitro*, il a été montré que l'utilisation d'inhibiteurs de RIPK3 pouvaient aussi déclencher de l'apoptose dépendante de la Caspase-8 [13]. Ceci met en évidence l'existence d'un cercle vicieux entre Caspase-8 et RIPK3, dans lequel l'un et l'autre se contrôlent mutuellement. Dans ce modèle murin lié à l'obésité, l'absence de RIPK3 déclenche une perte de contrôle de l'apoptose qui devient responsable du développement de la NASH et du syndrome métabolique. L'utilisation d'inhibiteurs de RIPK3 pour traiter la NASH chez l'humain semble donc également problématique et devrait être considérée en combinaison avec des inhibiteurs de l'apoptose. Plusieurs questions restent toutefois dans l'attente d'une réponse. Comment RIPK3 supprime l'activation de l'apoptose dans le contexte de l'obésité ? Est ce que l'utilisation d'inhibiteurs de RIPK3 aurait un effet similaire chez les souris obèses ? Finalement, comme RIPK3 montre des fonctions indépendantes de la nécroptose en contrôlant l'apoptose, il serait important d'étudier si MLKL ne constituerait pas une cible plus adaptée car plus spécifique pour traiter la NASH.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

REFERENCES

1. Fujii H, Kawada N. Inflammation and fibrogenesis in steatohepatitis. *J Gastroenterol* 2012; 47 : 215-25.
2. Ratziu V, Sheikh MY, Sanyal AJ, *et al*. A phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study of GS-9450 in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2012; 55 : 419-28.
3. Witek RP, Stone WC, Karaca FG, *et al*. Pan-caspase inhibitor VX-166 reduces fibrosis in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2009; 50 : 1421-30.
4. Cabon L, Martinez-Torres AC, Susin SA. [Programmed cell death comes in many flavors]. *Med Sci (Paris)* 2013; 29 : 1117-24.
5. Zhang DW, Shao J, Lin J, *et al*. RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis. *Science* 2009; 325 : 332-6.

6. Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation. *Nature* 2015; 517 : 311-20.
7. Linkermann A, Green DR. Necroptosis. *N Engl J Med* 2014; 370 : 455-65.
8. Afonso MB, Rodrigues PM, Carvalho T, *et al.* Necroptosis is a key pathogenic event in human and experimental murine models of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Sci (Lond)* 2015; 129 : 721-39.
9. Gautheron J, Vucur M, Reisinger F, *et al.* A positive feedback loop between RIP3 and JNK controls non-alcoholic steatohepatitis. *EMBO Mol Med* 2014; 6 : 1062-74.
10. Gautheron J, Vucur M, Luedde T. Necroptosis in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2015; 1 : 264-5.
11. Gautheron J, Vucur M, Schneider AT, *et al.* The necroptosis-inducing kinase RIP3 dampens adipose tissue inflammation and glucose intolerance. *Nat Commun* 2016; 7 : 11869.
12. Roychowdhury S, McCullough RL, Sanz-Garcia C, *et al.* Receptor interacting protein 3 protects mice from high-fat diet-induced liver injury. *Hepatology* 2016; 64 : 1518-33.
13. Mandal P, Berger SB, Pillay S, *et al.* RIP3 induces apoptosis independent of pronecrotic kinase activity. *Mol Cell* 2014; 56 : 481-95.

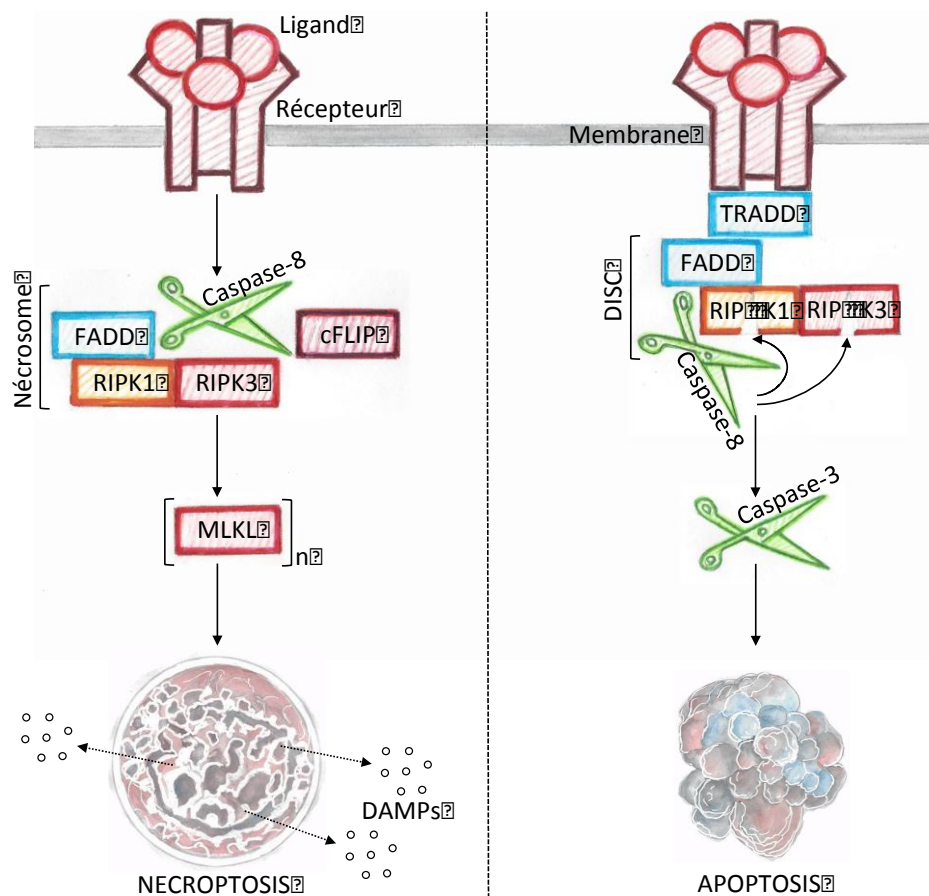


Figure 1. Activation de l'apoptose et de la nécroptose menant à la mort cellulaire. Panneau de droite : après fixation du ligand, le domaine intracytoplasmique du récepteur recrute les protéines adaptatrices TRADD (*tumor necrosis factor receptor*

type 1-associated death domain protein) et FADD (*fas-associated protein with death domain*). Cette dernière interagit avec la pro-Caspase-8 pour former une plateforme de signalisation appelée le complexe de signalisation induisant la mort (*death-inducing signaling complex, DISC*). La pro-Caspase-8 s'active par auto-clivage puis clive la pro-Caspase-3 qui va déclencher l'apoptose. Dans le même temps, les kinases RIPK1 et RIPK3 sont clivées par la Caspase-8 pour prévenir la formation du nécrosome. L'apoptose est représentée schématiquement avec les corps apoptotiques de la cellule mourante. A noter que les membranes plasmiques restent intactes durant tout le processus de mort cellulaire.

Panneau de gauche : la nécroptose est initiée par le récepteur seulement si la Caspase-8 se retrouve inhibée. Dans le cas montré, cFLIP forme un hétérodimère avec la pro-Caspase-8 ce qui a pour conséquence de prévenir son activité protéolytique. L'inhibition chimique ou l'ablation de la Caspase-8 aboutissent aussi à l'activation de la nécroptose. Dans ces différentes conditions, l'activation du récepteur induite par la fixation du ligand permet la formation du nécrosome, un complexe de signalisation comprenant l'adaptateur FADD et les kinases RIPK1 et RIPK3. Le nécrosome induit la mort cellulaire via la phosphorylation de MLKL qui forme des oligomères capables de créer des pores dans la membrane plasmique. La formation des pores serait responsable du relargage de médiateurs de l'inflammation, les DAMPs. Le nécrosome pourrait activer d'autres médiateurs qui n'ont pas été encore identifiés.